Amersham™ WB system

Instrucciones de funcionamiento

Idioma de origen de la traducción: inglés

Página dejada intencionalmente en blanco

Índice

1 Introducción 5
- 1.1 Acerca de este manual 7
- 1.2 Información importante para los usuarios 8
- 1.3 Información reglamentaria 10
- 1.4 Amersham WB system documentación 14

2 Instrucciones de seguridad 16
- 2.1 Precauciones de seguridad 17
- 2.2 Etiquetas 26
- 2.3 Procedimientos de emergencia 32
- 2.4 Información sobre reciclado 34

3 Descripción del sistema 35
- 3.1 Descripción general del instrumento 36
- 3.2 Unidad Elpho & scan 40
- 3.3 Unidad Western 45
  - *3.3.1 Información general 46*
  - *3.3.2 Compartimentos de la unidad Western 50*
  - *3.3.3 Recorridos de flujos de líquidos 55*
- 3.4 Descripción general de accesorios y consumibles 60
- 3.5 Consumibles premarcados 65
- 3.6 Accesorios y consumibles para electroforesis 67
  - *3.6.1 Amersham WB molecular weight markers 68*
  - *3.6.2 Amersham WB gel card 71*
  - *3.6.3 Amersham WB buffer strip y Amersham WB buffer strip holder 74*
  - *3.6.4 Amersham WB paper comb 76*
- 3.7 Accesorios y consumibles para los pasos de la transferencia Western 77
  - *3.7.1 Accesorios y consumibles para transferencia 78*
  - *3.7.2 Anticuerpos secundarios – sondeo 83*
  - *3.7.3 Soporte de secado – secado de la tarjeta PVDF 85*
  - *3.7.4 Adaptador de membrana – análisis de tarjeta PVDF 86*
- 3.8 Otros accesorios 87
- 3.9 Descripción general del software 89

4 Instalación 93
- 4.1 Preparación del lugar 94
- 4.2 Instalación del hardware 97
- 4.3 Instalación del software 111

5 Realizar un experimento 116
- 5.1 Información general 118
- 5.2 Inicie el Amersham WB analyzer 122
- 5.3 Configurar un experimento en el software 124
- 5.4 Realizar el premarcaje de muestras 128
- 5.5 Preparación del Amersham WB molecular weight markers 132

5.6 Realizar electroforesis de proteínas ... 134
5.6.1 Antes de la electroforesis ... 135
5.6.2 Realizar la electroforesis ... 142
5.6.3 Procedimientos después de la electroforesis y del análisis de la tarjeta de gel ... 144
5.7 Realizar transferencia ... 146
5.7.1 Preparar y conectar soluciones de transferencia ... 147
5.7.2 Preparar el sándwich de transferencia ... 149
5.7.3 Ejecutar transferencia ... 164
5.7.4 Procedimientos después de la transferencia ... 168
5.8 Realizar sondeo y secado ... 171
5.8.1 Preparar y conectar sondas y soluciones de anticuerpos ... 172
5.8.2 Realizar el sondeo ... 176
5.8.3 Procedimientos después del sondeo ... 181
5.8.4 Realizar el secado ... 185
5.9 Analizar membrana y ver los resultados ... 187

6 Mantenimiento ... 193
6.1 Programa de mantenimiento ... 196
6.2 Instrucciones de mantenimiento ... 201
6.2.1 Limpieza semanal de los recorridos de los flujos de transferencia y de sondeo ... 202
6.2.2 Procedimientos de reemplazo ... 206
6.2.3 Traslado de las unidades del instrumento ... 218

7 Información de referencia ... 220
7.1 Especificaciones del sistema ... 221
7.2 Guía de resistencia química ... 226
7.3 Formulario de declaración de salud y seguridad ... 228
7.4 Traducciones de accesorios y consumibles ... 231

Índice ... 232

1 Introducción

El Amersham WB system

El Amersham WB system es un sistema integrado para SDS-PAGE y para análisis de proteínas en transferencia Western, basado en la detección por fluorescencia. Los pasos de electroforesis, análisis, transferencia y sondeo automático los realiza el mismo sistema. Hay disponibles reactivos para premarcaje y detección de anticuerpos, así como consumibles de gel y membranas.

El Amersham WB system incluye el instrumento, el Amersham WB analyzer, Amersham WB software (software) y los accesorios y consumibles. El Amersham WB analyzer se compone de dos unidades, la unidad Amersham WB elpho & scan y la unidad Amersham WB western.

El sistema es compatible con muchas aplicaciones, desde el cribado rápido de la composición o abundancia de las proteínas hasta el análisis cuantitativo avanzado para hacer comparaciones de niveles de proteína entre muestras. Las proteínas pueden ser premarcadas con el reactivo Amersham WB Cy™5 y, por tanto, pueden detectarse directamente en el gel después de la electroforesis. En los experimentos Western , las muestras de proteínas no marcadas o de proteínas Cy5 premarcadas se transfieren a las membranas, y las proteínas objetivo pueden detectarse mediante anticuerpos conjugados secundarios Cy3 y/o Cy5. La detección basada en la fluorescencia proporciona una alta sensibilidad y un amplio espectro dinámico, además de permitir el análisis multiplex de la misma membrana de transferencia Western.

El análisis multiplex de proteínas totales premarcadas con Cy5 y detectadas con anticuerpos secundarios marcadas con Cy3 permite la normalización de las señales objetivo mediante el uso de proteínas totales en cada fila. Amersham WB software, de fácil uso, para controlar los diferentes pasos del flujo de trabajo y para la evaluación automatizada o manual de sus resultados, es parte del sistema.

Para ver una lista de nombres traducidos de accesorios y consumibles, consulte *Sección 7.4 Traducciones de accesorios y consumibles, en la página 231*.

Contenido de este capítulo

Este capítulo contiene las siguientes secciones:

Sección	Consulte la página
1.1 Acerca de este manual	7

Sección	Consulte la página
1.2 Información importante para los usuarios	8
1.3 Información reglamentaria	10
1.4 Amersham WB system documentación	14

1.1 Acerca de este manual

Objetivo de este manual

Las *Instrucciones de funcionamiento* le proporcionan las instrucciones necesarias para instalar, poner en funcionamiento y realizar tareas de mantenimiento del Amersham WB system de forma segura.

Alcance de este manual

Las *Instrucciones de funcionamiento* contienen la información siguiente:

- información sobre seguridad y de carácter normativo
- una descripción del sistema, incluidos los accesorios y consumibles que se van a usar con el sistema
- instrucciones de instalación
- información sobre cómo realizar un experimento de forma segura
- instrucciones de mantenimiento para el usuario
- especificaciones e información de referencia adicional

Convenciones tipográficas

Los elementos de software se identifican en el texto en ***cursiva negrita***. Los dos puntos separan los niveles del menú, de ese modo ***File:Open*** se refiere al comando ***Open*** en el menú ***File***.

Los elementos de Hardware se identifican por el texto en **negrita** (por ejemplo., interruptor**Power**).

1.2 Información importante para los usuarios

Lea lo siguiente antes de poner en funcionamiento el Amersham WB analyzer

Todos los usuarios deben leer las *Instrucciones de funcionamiento* al completo antes de instalar, utilizar o realizar trabajos de mantenimiento en el instrumento. Mantenga las *Instrucciones de funcionamiento* a mano cuando utilice el Amersham WB analyzer.

Utilice el equipo Amersham WB analyzer únicamente en la forma indicada en la documentación de usuario.
De lo contrario, puede quedar expuesto a peligros que causen lesiones a su persona y daños al equipo.

Uso previsto

Amersham WB system es un sistema de electroforesis de proteínas y de transferencia Western que incluye el análisis de tarjetas de gel y tarjetas PVDF. Las proteínas pueden marcarse previamente con Cy5 para que puedan detectarse directamente en el gel después de la electroforesis. En los experimentos Western, las muestras de proteínas sin marcar o de proteínas Cy5 premarcadas se transfieren a las membranas, y las proteínas objetivo pueden detectarse con anticuerpos conjugados secundarios Cy3 y/o Cy5. La detección basada en la fluorescencia proporciona una alta sensibilidad y un amplio espectro dinámico, además de permitir el análisis multiplex de la misma membrana de transferencia Western.

Amersham WB El system está diseñado para su uso en investigación únicamente y no debe ser empleado en procedimientos clínicos ni para realizar diagnósticos.

Requisitos previos

Para poner en funcionamiento el sistema en la forma indicada, se deben respetar los requisitos previos indicados a continuación:

- Debe contar con conocimientos generales acerca de cómo funcionan un ordenador y el sistema Microsoft® Windows®.
- Debe comprender los conceptos de electroforesis y transferencia de Western.

- El instrumento y el software deben instalarse conforme a las instrucciones existentes en *Capítulo 4 Instalación, en la página 93*.

Consejo: *Para leer más sobre los principios y métodos de transferencia Western y para tener orientación sobre cómo realizar una transferencia Western correcta, una descarga o pedir el manual, Western Blotting – Principles and Methods 28-9998-97, en www.gelifesciences.com.*

Información de seguridad

Esta documentación del usuario contiene avisos (ADVERTENCIA, PRECAUCIÓN y AVISO) sobre el uso seguro del producto. Consulte las definiciones a continuación.

ADVERTENCIA

ADVERTENCIA indica situaciones peligrosas que, si no se evitan, podrían causar la muerte o lesiones de gravedad. Es muy importante no proceder hasta cumplir y comprender todas las condiciones establecidas.

PRECAUCIÓN

PRECAUCIÓN indica situaciones peligrosas que, si no se evitan, podrían causar lesiones menores o moderadas. Es muy importante no proceder hasta cumplir y comprender todas las condiciones establecidas.

AVISO

AVISO indica las instrucciones que se deben seguir para evitar daños al producto u otros equipos.

Notas y consejos

Nota: *La nota A se utiliza para indicar información que es importante para un uso óptimo y sin problemas del producto.*

Consejo: *La sugerencia contiene información útil que puede mejorar u optimizar los procedimientos.*

1.3 Información reglamentaria

Introducción

Esta sección describe las directivas y las normativas que cumple el Amersham WB system.

Información de fabricación

La siguiente tabla resume la información de fabricación requerida. Para obtener más información, ver el documento de la Declaración de conformidad (DoC) en la UE.

Requisito	Contenido
Nombre y dirección del fabricante	GE Healthcare Bio-Sciences AB, Björkgatan 30, SE 751 84 Uppsala, Sweden

Conformidad con las Directivas de la UE

Este producto cumple con las directivas europeas que se mencionan en la tabla mediante el cumplimiento de las correspondientes normas armonizadas.

Directiva	Título
2006/42/CE	Directiva sobre máquinas (MD)
2004/108/CE	Directiva sobre compatibilidad electromagnética (EMC)
2006/95/CE	Directiva sobre baja tensión (LVD)

Marca CE

La marca CE y la correspondiente Declaración de conformidad en la UE son válidas para el instrumento siempre y cuando:

- se use como una unidad independiente; o
- se conecte a otros productos recomendados o descritos en la documentación del usuario; y
- se use en el mismo estado en que fue entregado por GE, a excepción de las modificaciones descritas en la documentación del usuario.

Normas internacionales

Los requisitos de las normas con los que cumple este producto se resumen en la tabla que aparece a continuación.

Norma	Descripción	Notas
EN/IEC 61010-1, UL 61010-1, CAN/CSA-C22.2 N.º 1010.1	Requisitos de seguridad para equipos eléctricos de medición, control y uso en laboratorio.	La norma EN está armonizada con la directiva 2006/95/CE de la UE.
EN/IEC61326-1 (Emisiones según CISPR 11, Grupo 1, clase A)	Equipos eléctricos para fines de medición, control y laboratorio - requisitos del EMC.	La norma EN está armonizada con la directiva 2004/108/CE de la UE.
EN ISO 12100	Seguridad de máquinas. Principios generales de diseño. Evaluación de riesgos y reducción de riesgos.	La norma ISO EN está armonizada con la directiva de la UE 2006/42/CE.
EN/IEC 60825-1	Seguridad de los productos láser	La norma EN está armonizada con la directiva 2006/95/CE de la UE.

Normativas y normas del láser

Este equipo es un producto láser de clase 1 (IEC 60825-1:2007/EN 60825-1:2007).

Este instrumento cumple con los requisitos de seguridad de radiación láser especificados en el Código de Reglamentaciones Federales (21 CFR, Título 1, Subcapítulo J, Parte 1040-10 Productos láser).

Conformidad con FCC

Este equipo cumple con la Parte 15 de las reglas de la Confederación Federal de Comunicaciones (FCC) estadounidense. Su funcionamiento está sujeto a las dos condiciones siguientes: (1) Este dispositivo no puede causar interferencias dañinas y (2) debe aceptar cualquier interferencia recibida, incluidas aquellas que puedan originar un funcionamiento no deseado.

Nota: *Se advierte al usuario que cualquier cambio o modificación no aprobado expresamente por GE podría anular la autoridad del usuario para operar el equipo.*

Este equipo fue probado, y se determinó que cumple con los límites de un dispositivo digital Clase A, conforme a la Parte 15 de las normas FCC. Estos límites se han previsto para ofrecer una protección razonable contra interferencias dañinas cuando se utiliza en un entorno comercial. Este equipo genera, utiliza y puede emitir energía de radiofrecuencia y, si no se instala y utiliza conforme al manual de instrucciones, puede causar interferencias perjudiciales para las radiocomunicaciones. La utilización de este equipo en un área residencial podría provocar interferencias dañinas, en cuyo caso, el usuario deberá corregir la interferencia por cuenta propia.

Conformidad medioambiental

Regulación	Título
2011/65/EU	Directiva de Restricción de sustancias peligrosas (RoHS)
2012/19/UE	Directiva de Residuos de equipos eléctricos y electrónicos (WEEE)
Normativa (EC) nº 1907/2006	Registro, evaluación, autorización y restricción de sustancias químicas (REACH)
ACPEIP	Gestión para el control de la contaminación provocada por los productos informáticos electrónicos, Restricción de sustancias peligrosas (RoHS) de China

Cumplimiento con las reglamentaciones del equipo conectado

Cualquier equipo conectado a Amersham WB analyzer deberá cumplir con los requisitos de seguridad de las normativas IEC/EN/UL/CSA 61010-1, IEC/EN/UL/CSA 60950-1, u otras normativas y normas nacionales pertinentes a la seguridad.

El equipo debe instalarse y utilizarse conforme a las instrucciones del fabricante. En la Unión Europea, el equipo conectado debe tener la marca CE.

1.4 Amersham WB system documentación

Introducción

En esta sección se describe la documentación del usuario y la documentación asociada del Amersham WB system.

Documentación de usuario

En la siguiente tabla se muestra la documentación del usuario que se entrega con Amersham WB system:

Documento	Contenido principal	Disponibilidad
Amersham WB analyzer Instrucciones de desembalaje	En esta instrucción se describe como desembalar el Amersham WB analyzer.	En el interior de la caja de entrega de Amersham WB analyzer.
Instrucciones de funcionamiento de Amersham WB system	Este manual contiene la información necesaria para: • instalar, manejar y realizar mantenimiento del Amersham WB system de forma segura • realizar un experimento típico de forma segura También contiene información de seguridad y normativa, una descripción del sistema e información de referencia.	Con el sistema se entrega la versión impresa en inglés. Las versiones traducidas están disponibles en archivos PDF en el CD de documentación del usuario.
Amersham WB system User Manual	Este manual contiene la información necesaria para: • operar y realizar mantenimiento del Amersham WB system de forma segura • planificar, realizar y evaluar la electroforesis y experimentos Western • resolver problemas del sistema y resultados También contiene una descripción del sistema, información de referencia e información sobre pedidos.	Integrado con Amersham WB software como manual en HTML en el menú Ayuda. También disponible como archivo PDF en el CD de documentación del usuario.

Documento	Contenido principal	Disponibilidad
Amersham WB software Help	El Amersham WB software Help contiene información acerca de: • flujos de trabajo del usuario para realizar electroforesis y experimentos Western • descripciones del software • vínculos al Amersham WB system User Manual para obtener información detallada sobre la manipulación del instrumento, accesorios y consumibles	Integrado con Amersham WB software (en el panel derecho del software).

Manual de métodos

El manual *Western Blotting – Principles and Methods* constituye una guía del flujo de trabajo de transferencia Western completo. Describe los aspectos teóricos y prácticos de la técnica, además de incluir sugerencias y consejos útiles. El objetivo del manual es guiar e inspirar a los principiantes, así como a los expertos, a la realización de operaciones de transferencia Western correctas.

Descargue o pida el manual, *Western Blotting – Principles and Methods* 28-9998-97, en www.gelifesciences.com.

Archivos de datos y notas de aplicaciones

Los archivos de datos y las notas de aplicación pueden pedirse o descargarse en www.gelifesciences.com.

2 Instrucciones de seguridad

Acerca de este capítulo

Este capítulo describe las precauciones de seguridad y los procedimientos de parada de emergencia para el Amersham WB system. También se describen las etiquetas del instrumento e información relativa al reciclaje.

Contenido de este capítulo

Este capítulo contiene las siguientes secciones:

Sección	Consulte la página
2.1 Precauciones de seguridad	17
2.2 Etiquetas	26
2.3 Procedimientos de emergencia	32
2.4 Información sobre reciclado	34

2.1 Precauciones de seguridad

Introducción

El Amersham WB analyzer es alimentado por la red eléctrica y procesa líquidos que pueden ser peligrosos. Antes de instalar, poner en funcionamiento o mantener el instrumento, debe conocer los peligros que se describen en este manual.

Respete siempre las normas e instrucciones locales durante el funcionamiento y mantenimiento del sistema y manipule los productos químicos de forma segura.

Siga las instrucciones para evitar lesiones personales o daños en el equipo.

Las precauciones de seguridad descritas en esta sección se agrupan en las siguientes categorías:

- Precauciones generales
- Líquidos inflamables
- Protección personal
- Instalación y transporte
- Funcionamiento del sistema
- Mantenimiento
- Desmantelamiento

Precauciones generales

ADVERTENCIA

Opere Amersham WB analyzer únicamente de la forma indicada en Instrucciones de funcionamiento.

ADVERTENCIA

No utilice ningún accesorio que no sea suministrado o recomendado por GE.

ADVERTENCIA

No utilice el equipo Amersham WB analyzer si no funciona correctamente o si ha sufrido algún daño, por ejemplo:

- daños en el cable de alimentación o el enchufe
- daños causados porque el equipo se cayó
- daños en otras piezas que pueden afectar el funcionamiento

Líquidos inflamables

PRECAUCIÓN

Peligro de incendio.

- Si se ha derramado líquido en el exterior del dispositivo Elpho & scan o en la carcasa de la unidad Western, desconecte la corriente y pase un paño para eliminar el líquido.
- Si se ha derramado líquido sobre las partes del instrumento, penetrando la carcasa del Elpho & scan o de la unidad Western, desconecte el cable de alimentación que va a las unidades y póngase en contacto con el departamento de mantenimiento.

PRECAUCIÓN

Peligro de incendio. Asegúrese de que los tubos de residuos que vienen de la unidad Western sean dirigidos hacia la botella de residuos que está ubicada debajo de la mesa y de que no haya ninguna fuga antes comenzar un ciclo de funcionamiento. Se necesita una botella de residuos vacía de al menos 4 litros.

PRECAUCIÓN

Peligro de incendio. No utilice soluciones amortiguadoras de transferencia que contengan más de un 40 % de etanol o más de un 40 % de metanol. Se recomienda utilizar solamente un 20 % de etanol en las soluciones amortiguadoras de transferencia.

Protección personal

ADVERTENCIA

Utilice siempre guantes, ropa de protección y gafas adecuadas cuando manipule tarjetas de gel, tarjetas PVDF y otros consumibles que se suministran con Amersham WB system.

ADVERTENCIA

Cuando trabaje en el premarcaje de muestras de proteínas:

- Utilice siempre ropa de protección, guantes y gafas adecuadas.
- Lea la Ficha de datos de seguridad (SDS/MSDS) antes de realizar el premarcaje de muestras.

ADVERTENCIA

El Amersham WB analyzer es un producto Clase A. En el entorno del hogar, podría causar radiointerferencia y es posible que el usuario deba tomar las medidas pertinentes.

PRECAUCIÓN

Sustancias peligrosas. Cuando trabaje con sustancias químicas y agentes biológicos peligrosos, tome todas las medidas de protección adecuadas, como usar gafas y guantes de protección resistentes a la sustancia que está utilizando. Para un funcionamiento, mantenimiento y desmantelamiento seguros del equipo, respete las normativas locales y nacionales.

PRECAUCIÓN

Al realizarse el premarcaje de las proteínas de las muestras puede surgir un fuerte olor procedente de los vestigios de sulfato de dimetilo (DMS) y de dimetil sulfóxido (DMSO). Puede ser necesaria ventilación local para evacuar los gases. Para el funcionamiento seguro, siga las normativas e instrucciones locales.

PRECAUCIÓN

Utilice siempre guantes, ropa de protección y gafas adecuadas durante el funcionamiento y mantenimiento del Amersham WB analyzer .

PRECAUCIÓN

Equipo de Protección Personal (EPP). Durante el llenado, vaciado, transporte o traslado del sistema, debe utilizar siempre:

- Calzado de protección, preferiblemente con recubrimiento de acero.
- Guantes de trabajo para protegerse de los bordes afilados.
- Guantes protectores

Instalación y transporte

ADVERTENCIA

Si se va a utilizar metanol u otros productos químicos que necesitan ventilación, coloque el Amersham WB analyzer en una sala con ventilación para escape de humos.

ADVERTENCIA

Voltaje de alimentación. Asegúrese de que el voltaje de alimentación en el enchufe de la pared se corresponde con la especificación del instrumento antes de conectar el cable de alimentación.

ADVERTENCIA

Asegúrese de que el sistema esté colocado sobre una mesa estable y plana, con espacio adecuado para la ventilación.

ADVERTENCIA

No bloquee el acceso al interruptor de alimentación ni al cable de alimentación. El interruptor de alimentación debe ser de fácil acceso en todo momento. El cable de alimentación con enchufe debe ser fácil de desconectar en todo momento.

ADVERTENCIA

Protección a tierra y cable de alimentación.

El Amersham WB analyzer siempre debe estar conectado a un toma de corriente con descarga a tierra.

Utilice solamente el cable de alimentación de 3 hilos oficialmente autorizado, suministrado o aprobado por GE, o que cumpla todos los requisitos de los códigos locales sobre electricidad.

PRECAUCIÓN

Nunca mueva la unidad Western con las botellas colocadas sobre esta.

PRECAUCIÓN

Objeto pesado. Para levantar las unidades del instrumento de forma segura son necesarias dos personas.

AVISO

Cualquier ordenador que se utilice con el equipo deberá cumplir la normativa IEC/EN/UL/CSA 60950-1 u otras regulaciones relativas a la seguridad. Deberá instalarse y utilizarse conforme a las instrucciones del fabricante.

AVISO

Desconecte los cables. Para prevenir daños al equipo, desconecte siempre los cables antes de desplazar cualquier parte del instrumento.

Funcionamiento del sistema

ADVERTENCIA

Explosión de cristal. No utilice el sistema si el cristal de la tapa de sellado de la unidad Elpho & scan está rayado o roto. Apague el instrumento, desconecte el cable de alimentación y póngase en contacto con un ingeniero de mantenimiento autorizado.

ADVERTENCIA

Peligro de descarga eléctrica si se produce salpicadura durante el ciclo de operación. Si existe el riesgo de que el líquido salpicado penetre la carcasa del Amersham WB analyzer, apague el instrumento inmediatamente, desconecte el cable de alimentación y póngase en contacto con un ingeniero de mantenimiento autorizado.

ADVERTENCIA

Después de la electroforesis, o después de la transferencia (cuando se ha abierto el sándwich de transferencia y se ha colocado la tarjeta PVDF en el compartimento de sondeo), elimine el gel de forma segura. Lea la ficha de datos de seguridad (SDS/MSDS) de la tarjeta de gel para ver las instrucciones de seguridad con respecto al gel y su eliminación.

PRECAUCIÓN

Piezas en movimiento. Tenga cuidado al abrir o cerrar el cargador para evitar que los dedos o la ropa queden atrapados cuando se mueve el cargador.

Nunca coloque botellas o frascos en frente de la unidad Elpho & scan. Pueden caerse cuando se abre el cargador.

PRECAUCIÓN

Peligro de descarga eléctrica. Detenga siempre cualquier ciclo de transferencia en curso antes de limpiar el líquido del instrumento o de la mesa.

PRECAUCIÓN

Peligro de pinzamiento. No toque la cámara de sondeo móvil durante un ciclo de operación.

PRECAUCIÓN

No retire ninguna tapa de la unidad Elpho & scan. Hay un láser de clase 3B en el interior de la unidad.

PRECAUCIÓN

Para evitar la salpicadura de líquidos peligrosos, utilice filtros de entrada robustos conectados a los tubos de las botellas.

AVISO

No utilice productos químicos que no sean los incluidos en la información sobre resistencia química.

Mantenimiento

ADVERTENCIA

Peligro de descarga eléctrica. Todas las reparaciones se confiarán al personal de servicio autorizado por GE. No abra ninguna cubierta ni cambie piezas a menos que se indique lo contrario en la documentación del usuario.

ADVERTENCIA

Desconecte la alimentación. Recuerde siempre desconectar la corriente eléctrica del instrumento antes de reemplazar cualquier componente, a menos que se indique lo contrario en la documentación del usuario.

ADVERTENCIA

Retire cualquier botella del soporte de botellas antes de abrir la tapa del compartimento de mantenimiento.

ADVERTENCIA

Cuando trabaje con químicos peligrosos, evite los derrames y use gafas de protección y otros equipos de protección personal adecuados. Por ejemplo, el NaOH es corrosivo y, por tanto, peligroso para la salud.

ADVERTENCIA

Solo se pueden utilizar piezas de repuesto aprobadas o suministradas por GE para realizar el mantenimiento o la reparación del sistema..

ADVERTENCIA

Cuando reemplace un cable de alimentación dañado, utilice un cable de repuesto del mismo tipo y de las mismas dimensiones y en conformidad con todos los requisitos vigentes del código local sobre electricidad, así como aprobado por GE.

ADVERTENCIA

Antes de cambiar los fusibles de la red eléctrica, desconecte siempre la corriente principal Para tener protección continua contra el riesgo de incendio, sustituya los fusibles solamente por fusibles del mismo tipo y clasificación eléctrica, como se indica en las etiquetas del instrumento.

PRECAUCIÓN

Cuando trabaje con químicos peligrosos, tome todas las medidas de protección adecuadas, como usar gafas y guantes de protección resistentes a los químicos que está utilizando. Para un funcionamiento y mantenimiento seguro del sistema, respete las normas e instrucciones locales.

Servicio

ADVERTENCIA

Desinfecte el equipo antes de realizar reparaciones para asegurarse de que se hayan eliminado los residuos peligrosos.

Desmantelamiento

ADVERTENCIA

Desinfecte el equipo antes de desmantelarlo para asegurarse de que se hayan eliminado los residuos peligrosos.

2.2 Etiquetas

Introducción

En esta sección se describen las etiquetas de seguridad y las etiquetas sobre sustancias peligrosas que se encuentran adheridas al Amersham WB analyzer. Para obtener información sobre la rotulación del equipo informático, consulte las instrucciones del fabricante.

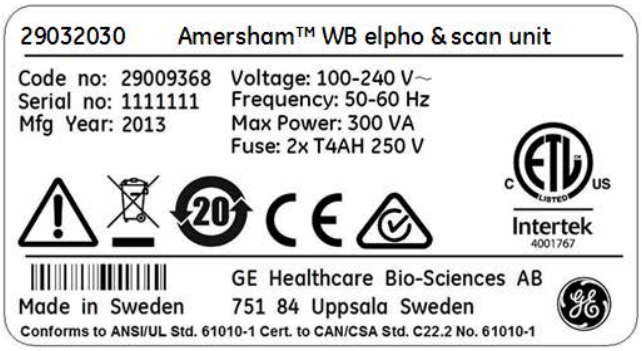
Ubicación de las etiquetas en el Amersham WB analyzer

La siguiente ilustración muestra la ubicación de las etiquetas en la unidad Elpho & scan y en la unidad Western.

Pieza	Descripción
1	**Computer**
2	**Western unit**
3	Etiqueta de producto de la unidad Amersham WB elpho & scan
4	Etiqueta de seguridad relacionada con la luz láser
5	Etiqueta de producto de la unidad Amersham WB western
6	**Elpho & scan unit**
7	**Only for service**

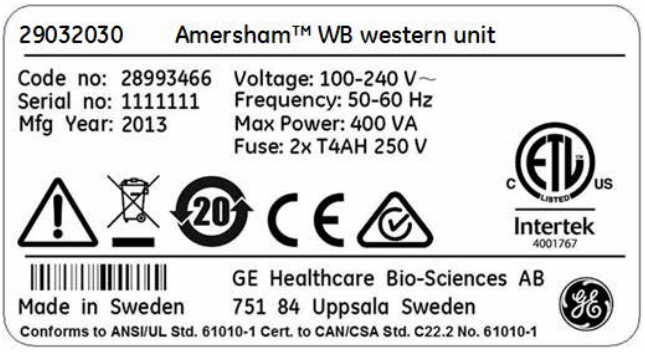
Etiqueta de la unidad Elpho & scan

La siguiente ilustración muestra un ejemplo de la etiqueta de producto que está adherida a la unidad Elpho & scan. La etiqueta está ubicada en la panel posterior de la unidad del instrumento.



Etiqueta de la unidad Western

La siguiente ilustración muestra un ejemplo de la etiqueta de producto que está adherida a la unidad Western. La etiqueta está ubicada en la panel posterior de la unidad del instrumento.



Símbolos de seguridad utilizados en las etiquetas de la unidad del instrumento

Los símbolos de seguridad siguientes se utilizan en las etiquetas:

Etiqueta	Descripción
	¡Advertencia! Antes de usar el sistema, lea la documentación del usuario. No abra ninguna tapa ni cambie piezas salvo que esté específicamente indicado en la documentación del usuario.
	El sistema cumple con la normativa vigente en Europa. Consulte el *Normas internacionales, en la página 11*.
	El sistema cumple con los correspondientes requisitos de Australia y Nueva Zelanda.

Etiqueta	Descripción
	Este símbolo indica que el producto Amersham WB system ha sido certificado por un laboratorio de pruebas reconocido nacionalmente (Nationally Recognized Testing Laboratory o NRTL). NRTL se refiere a una organización que está reconocida por la administración de salud y seguridad ocupacional de EE.UU. (US Occupational Safety and Health Administration, o OSHA) por cumplir los requisitos legales del Título 29 del Código de Reglamentaciones Federales (29 CFR) Part 1910.7.

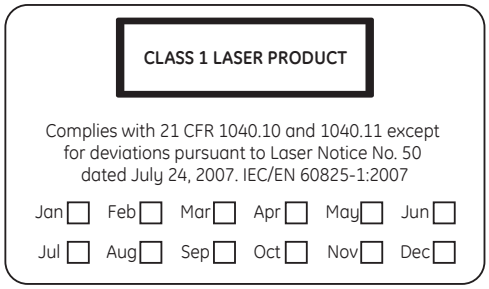
Símbolos relacionados con sustancias peligrosas que se usan en las etiquetas del instrumento

Los siguientes símbolos de las etiquetas hacen referencia a las sustancias peligrosas:

Etiqueta	Descripción
	Este símbolo indica que los residuos de aparatos eléctricos y electrónicos no deben desecharse como residuo de recolección municipal sin clasificar y debe recogerse por separado. Comuníquese con un representante autorizado del fabricante para obtener información sobre el desmantelamiento de equipos.
	Este símbolo indica que el producto contiene materiales peligrosos que superan los límites establecidos por el estándar chino "SJ/T11363-2006 Requirements for Concentration Limits for Certain Hazardous Substances in Electronics" (Requisitos SJ/T11363-2006 sobre los límites de concentración de ciertas sustancias peligrosas en equipos electrónicos).

Etiqueta de seguridad relacionada con la luz láser

Las siguientes etiquetas están relacionadas con la luz láser, y la primera está adherida al panel posterior de la unidad Elpho & scan. La segunda está adherida al interior del cargador de Elpho & scan:

Etiqueta	Descripción
	Este equipo es un producto láser de clase 1 (IEC 60825-1:2007/EN 60825-1:2007). Este instrumento cumple con los requisitos de seguridad de radiación láser especificados en el Código de Reglamentaciones Federales (21 CFR, Título 1, Subcapítulo J, Parte 1040-10 Productos láser). En la etiqueta también se indica el mes de fabricación.
	El símbolo se ve al abrir el cargador de Elpho & scan.

2.3 Procedimientos de emergencia

Introducción

En esta sección se describe cómo realizar una parada de emergencia del Amersham WB analyzer y las consecuencias en caso de un fallo de la alimentación eléctrica.

Parada de emergencia

En una situación de emergencia, desconecte los cables de alimentación de los **paneles posteriores** de la unidad Elpho & scan y de la unidad Western.

De este modo se asegurará que la alimentación se corte inmediatamente, incluso si se utiliza un sistema de alimentación ininterrumpida (SAI).

Fallo de alimentación

Las consecuencias de un fallo de alimentación eléctrica se describen a continuación:

Un fallo de alimentación en...	produce...
Amersham WB analyzer	• Todo experimento que esté en ejecución se detendrá. Los experimentos no se continuarán cuando se restablezca la alimentación eléctrica. ***Nota:*** *Gracias a un SAI se puede eliminar la pérdida de datos durante y después de un corte de energía y proporcionar el tiempo necesario para realizar una parada controlada del Amersham WB analyzer.* • La hora de la detención se registrará en el software de las unidades del instrumento.

Un fallo de alimentación en...	produce...
Ordenador	• El ordenador conectado a la unidad Elpho & scan se apaga. • Cualquier experimento en ejecución se continuará y finalizará, ya que el instrumento todavía tiene energía eléctrica.. • Cuando se reinicia el ordenador y se restablece el contacto, los resultados del experimento se guardan. Si corresponde, se escanearán las imágenes.

Reinicie después del apagado de emergencia o del fallo de alimentación del instrumento.

Cuando la alimentación se normaliza, no continuará ningún experimento que se estuviese ejecutando en el momento del apagado de emergencia. Proceda de la siguiente manera:

Paso	Acción
1	Si se han desconectado los cables de alimentación de la red eléctrica, conecte los cables a los paneles posteriores de las unidades del instrumento. Asegúrese de que los interruptores de corriente, que se encuentran en los paneles posteriores de las unidades del instrumento, estén activados (**I**). *Resultado:* las unidades del instrumento se ponen en funcionamiento.
2	Inicie el ordenador y el software (consulte *Iniciar el software, en la página 124*). Cuando las unidades del instrumento están conectadas, el evento de registro se guardará en el registro de experimentos.
3	Si desea completar un ciclo que fue interrumpido, abra el archivo del experimento para que se ejecute el ciclo. A continuación, abra el cuadro de diálogo ***Experiment Information*** y seleccione la pestaña ***Experiment log***. En el ***Experiment log***, compruebe en qué fase se interrumpió el experimento. Elimine las partes de la fase que se habían completado cuando se interrumpió el ciclo y reinicie la fase.

2.4 Información sobre reciclado

Introducción

Este capítulo contiene información acerca del desmantelamiento del Amersham WB analyzer.

Desinfección

El Amersham WB analyzer se debe desinfectar antes de desmantelarlo y se debe cumplir toda la normativa local relacionada con el desguace del equipo.

Instrucciones generales para el desecho

Al poner el Amersham WB analyzer fuera de servicio, se deben separar y reciclar los distintos materiales de acuerdo con las reglamentaciones ambientales nacionales y locales.

Cómo reciclar las sustancias peligrosas

El Amersham WB analyzer contiene sustancias peligrosas. Para obtener información detallada, comuníquese con su representante de GE.

Desecho de componentes eléctricos

Los residuos de los equipos eléctricos y electrónicos no se deben desechar como basura de recogida municipal sin clasificar y se deben recoger por separado. Comuníquese con un representante autorizado del fabricante para obtener información sobre el desmantelamiento de equipos.

3 Descripción del sistema

Acerca de este capítulo

En este capítulo se describen las diferentes partes del Amersham WB system. El Amersham WB system se compone de:

- Amersham WB analyzer (dos unidades)
- accesorios y consumibles que se van a usar con el instrumento
- un ordenador (no se incluye con la entrega del producto)
- Amersham WB software

Contenido de este capítulo

Este capítulo contiene las siguientes secciones:

Sección	Consulte la página
3.1 Descripción general del instrumento	36
3.2 Unidad Elpho & scan	40
3.3 Unidad Western	45
3.4 Descripción general de accesorios y consumibles	60
3.5 Consumibles premarcados	65
3.6 Accesorios y consumibles para electroforesis	67
3.7 Accesorios y consumibles para los pasos de la transferencia Western	77
3.8 Otros accesorios	87
3.9 Descripción general del software	89

3.1 Descripción general del instrumento

Introducción

En esta sección se ofrece una descripción general del instrumento Amersham WB analyzer.

El Amersham WB analyzer se compone de dos unidades:

- Amersham WB Unidad elpho & scan
- Amersham WB Unidad western

Las unidades del instrumento son controladas desde un ordenador en el que se ejecuta Amersham WB software.

Nota: *Las unidades del instrumento deben estar siempre conectadas entre ellas durante un ciclo de proceso. Ambas unidades deben estar encendidas cuando se está realizando un experimento en la unidad Western.*

Interruptores de seguridad

En el interior de la unidad Elpho & scan hay alta tensión y dos dispositivos láser. La unidad tiene dos interruptores de seguridad, que interrumpen el suministro eléctrico que va al conversor de alta tensión y a los láser cuando el cargador está abierto.

Hay alta tensión en el interior del depósito de transferencia de la unidad Western. La unidad tiene interruptores de seguridad que interrumpen el suministro eléctrico cuando la tapa del depósito de transferencia está abierta.

Ilustración de Amersham WB analyzer

La ilustración siguiente muestra el dispositivo Amersham WB analyzer, con la unidad Elpho & scan a la izquierda y la unidad Western a la derecha.

Ilustración de los paneles del instrumento

La misma configuración de luces indicadoras está disponible para cada compartimento de las unidades del instrumento (electroforesis y análisis, transferencia, sondeo y secado). Cuando las unidades del instrumento están encendidas, se iluminan las luces que muestran los nombres de los compartimentos. Los indicadores están ubicados en el panel de instrumento de cada unidad.

La ilustración siguiente muestra los paneles del instrumento de las dos unidades, con los nombres de los compartimentos iluminados.

Indicadores del instrumento

La tabla siguiente describe los diferentes indicadores. Los indicadores (Listo/Ciclo finalizado, Procesar y Error o Advertencia) son idénticos para todos los compartimentos de las unidades del instrumento. En este ejemplo, **TRANSFER** se describen los indicadores.

Indicadores de estado	Estado	Descripción
TRANSFER	Encendido	El texto se ilumina cuando la unidad se está encendiendo y realizando pruebas internas.
TRANSFER	Listo/Ciclo finalizado	La luz se enciende cuando: • la unidad/compartimento está lista para un nuevo experimento • se ha completado una fase (por ejemplo, electroforesis, análisis, transferencia, sondeo o secado)
TRANSFER	Ejecución	La luz se enciende: • cuando la unidad/compartimento está funcionando • durante la limpieza del recorrido del flujo de transferencia o de sondeo ***Nota:*** *No abra las tapas relacionadas mientras está funcionando. Por ejemplo, si se abre la tapa de transferencia durante la transferencia se detendrá el ciclo de transferencia y el resultado puede verse afectado.*

Indicadores de estado	Estado	Descripción
	Error o Advertencia	La luz se enciende cuando se produce un error Para obtener información sobre el error, consulte Amersham WB software. El software proporciona sugerencias sobre cómo corregir el problema.

3.2 Unidad Elpho & scan

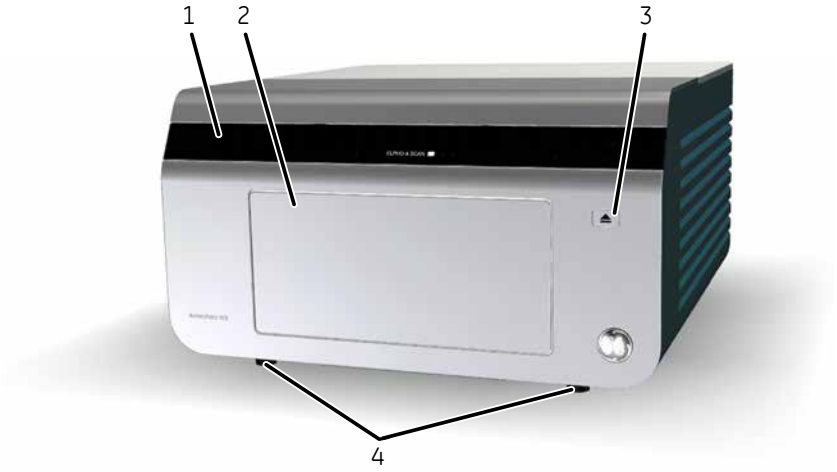
Introducción

La unidad Elpho & scan se usa para separar las proteínas de muestras tratadas con SDS en un gel de poliacrilamida. También se usa para analizar los geles después de la electroforesis y las tarjetas PVDF después del sondeo y secado en un experimento Western.

Esta sección ofrece una descripción general de la unidad Elpho & scan.

Ilustración de la unidad Elpho & scan

La ilustración siguiente muestra las partes principales de la unidad Elpho & scan:

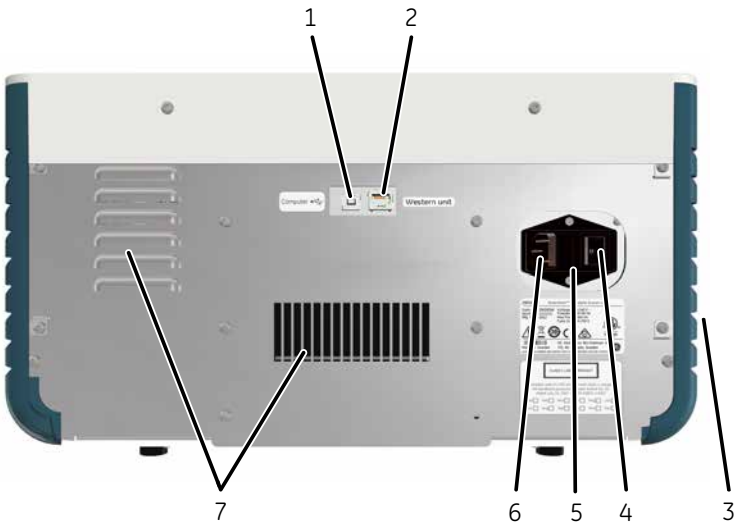


Pieza	Descripción
1	Panel de instrumentos (con indicadores de estado)
2	Cargador de Elpho & scan Para cargar las tarjetas de gel o tarjetas PVDF.

Pieza	Descripción
3	Botón de expulsión Para abrir/cerrar el cargador del compartimento de electroforesis y análisis. ***Nota:*** *El cargador solo puede abrirse cuando no hay ningún experimento de electroforesis o análisis en marcha. Para poder expulsar el cargador, se debe detener primero cualquier ciclo que esté en curso mediante la instrucción de software adecuada.*
4	Patas ajustables (4 patas, una en cada esquina)

Ilustración del panel posterior de la unidad Elpho & scan

La ilustración siguiente muestra las partes principales del panel posterior de la unidad Elpho & scan:



Pieza	Descripción
1	Conector para cable USB (USB tipo B) Para conectar la unidad Elpho & scan a un ordenador.
2	Conexión de comunicación para la unidad Western (usar cable Ethernet)
3	Entrada de aire
4	Interruptor de red de alimentación ENC=**I**, APA=**O**
5	Portafusibles (5 x 20 mm)
6	Conector de cable de alimentación (60320/C14)
7	Salidas de aire

Cargador de Elpho & scan

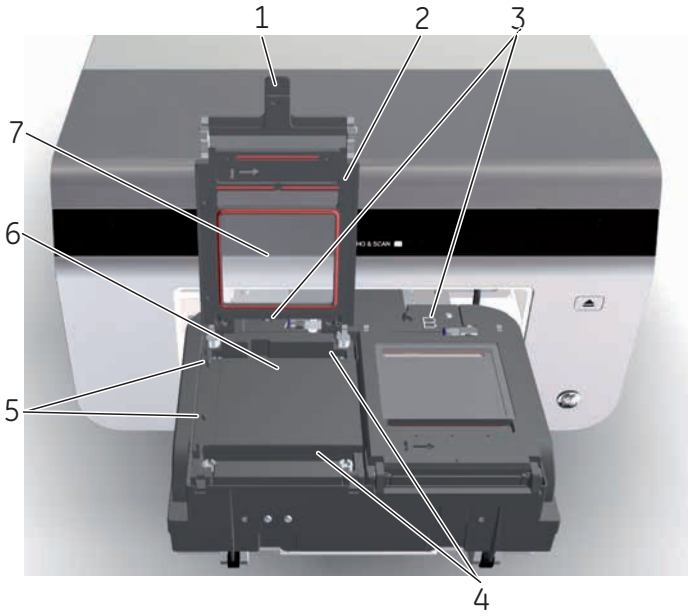
Cargador de El cargador de Elpho & scan se usa para cargar:

- tarjetas de gel para electroforesis y análisis
- Tarjetas PVDF para análisis. Al cargar tarjetas PVDF para analizarlas, se debe colocar primero una Amersham WB membrane adapter sobre la placa de la tarjeta (para obtener más información, consulte *Sección 5.9 Analizar membrana y ver los resultados, en la página 187*).

El cargador se expulsa de la unidad Elpho & scan al presionar el botón de expulsión en el panel frontal.

Ilustración del cargador Elpho & scan

La ilustración siguiente muestra la unidad Elpho & scan con el cargador expulsado y las tapas de sellado de la placa de la tarjeta izquierda abiertas.



Pieza	Descripción
1	Cerrojo Para abrir la tapa de sellado.
2	Tapa de sellado
3	Indicador de posición **A** y posición **B**
4	Cavidades Para soportes de tiras de solución amortiguadora, con conectores eléctricos para los electrodos de la solución amortiguadora.
5	Pasadores guía Para la colocación correcta de las tarjetas de gel o adaptadores de membrana, incluidas las tarjetas PVDF.
6	Placa de la tarjeta Para refrigerar las tarjetas de gel y sujetar las tarjetas en posición plana mientras se analizan.

Pieza	Descripción
7	Vidrio protector

3.3 Unidad Western

Introducción

Unidad La unidad Western se usa para:

- transferir las proteínas separadas en el gel a la membrana
- sondear las proteínas en la membrana con anticuerpos primarios y luego con anticuerpos secundarios conjugados con CyDye™
- secar las tarjetas PVDF (antes de analizarlas en la unidad Elpho & scan)

Esta sección ofrece una descripción general de la unidad Western.

En esta sección

Esta sección contiene las siguientes subsecciones:

Sección	Consulte la página
3.3.1 Información general	46
3.3.2 Compartimentos de la unidad Western	50
3.3.3 Recorridos de flujos de líquidos	55

3.3.1 Información general

Introducción

En esta sección se muestra una descripción general de los paneles frontal y posterior de la unidad Western.

Ilustración de la unidad Western

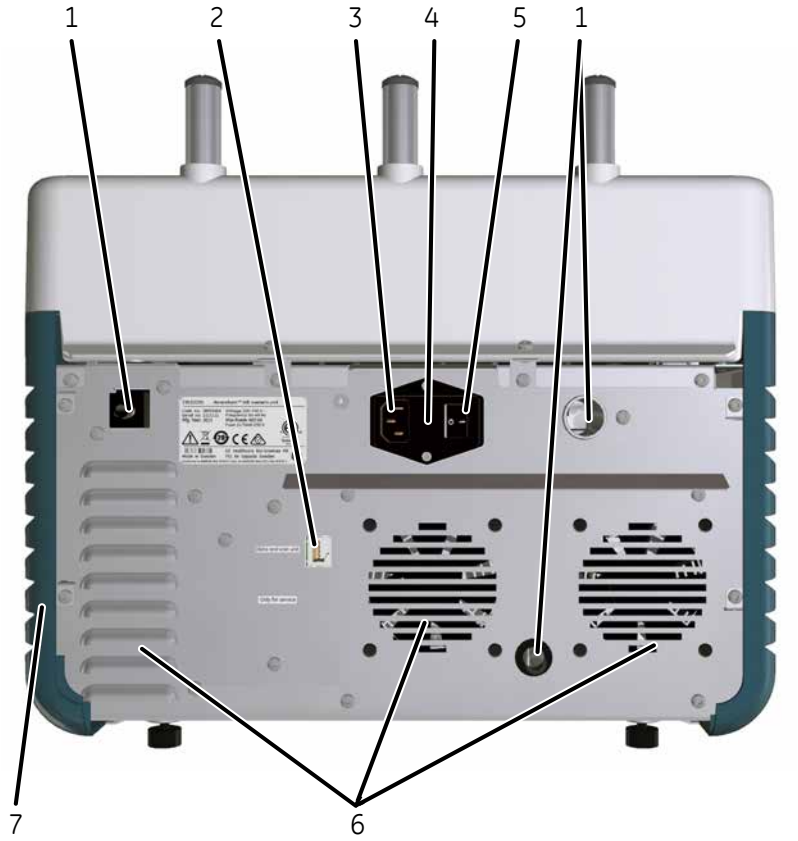
La ilustración siguiente muestra las partes principales de la unidad Western:

Pieza	Descripción
1	Tapa del compartimento de anticuerpos
2	Lugar que se presiona para abrir la tapa del compartimento de anticuerpos
3	Panel de instrumentos (para los indicadores de estado)
4	Tapa del depósito de transferencia

Pieza	Descripción
5	Soporte de botellas (y tapa del compartimento de servicio) ***Nota:*** *Retire el soporte de botellas solamente cuando se hayan inspeccionado las bombas y los tubos o cuando se sustituyen las piezas, como se describe en Capítulo 6 Mantenimiento, en la página 193.*
6	Soportes para tubería
7	Tapa del compartimento de sondeo
8	Tapa del compartimento de secado

Ilustración del panel posterior de la unidad Western

La ilustración siguiente muestra las partes principales del panel posterior de la unidad Western:



Pieza	Descripción
1	Salidas para residuos y tubos de desagüe
2	Conexión de comunicaciones para Elpho & scan (utilizar cable Ethernet)
3	Conector de cable de alimentación (60320/C14)
4	Portafusibles (5 x 20 mm)
5	Interruptor de suministro eléctrico (ON=**I**, OFF=**O**)
6	Salidas de aire

Pieza	Descripción
7	Entrada de aire

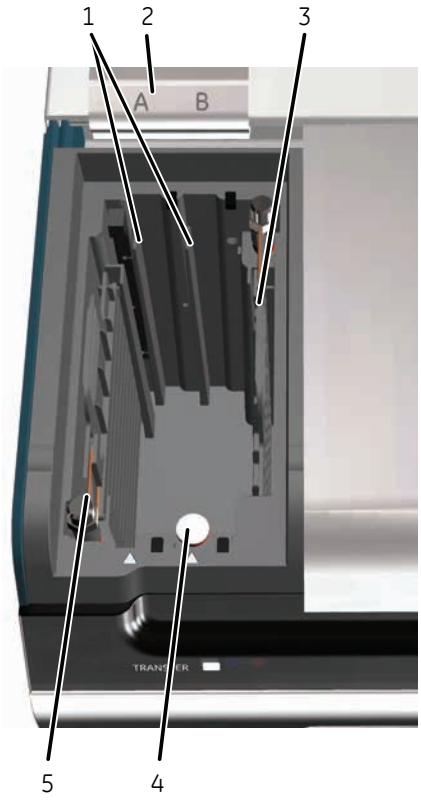
3.3.2 Compartimentos de la unidad Western

Introducción

En esta sección se describen los diferentes compartimentos de la unidad Western con las tapas abiertas.

Ilustración del depósito de transferencia

La ilustración siguiente muestra el depósito de transferencia de la unidad Western.

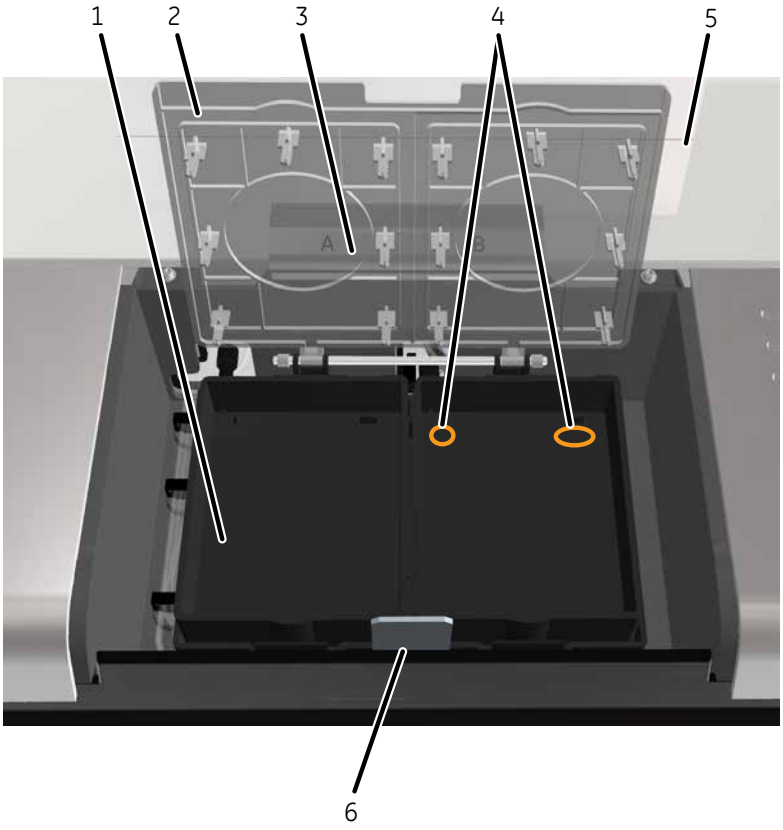


Pieza	Descripción
1	Pistas guía para el sándwich
2	Indicador de posición **A** y posición **B**

Pieza	Descripción
3	Electrodo derecho de transferencia
4	Filtro del depósito de transferencia
5	Electrodo izquierdo de transferencia

Ilustración del compartimento de sondeo

La ilustración siguiente muestra el compartimento de sondeo de la unidad Western.

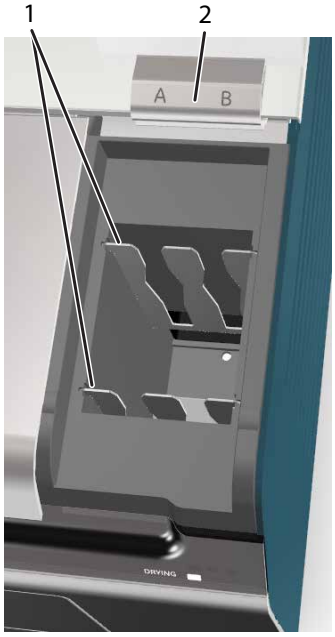


Pieza	Descripción
1	Cámara de sondeo

Pieza	Descripción
2	Tapa de la cámara de sondeo
3	Indicador de posición **A** y posición **B**
4	Pasadores guía para tarjeta PVDF (marcados con círculos naranja)
5	Tapa del compartimento de sondeo
6	Pestillo de la tapa de la cámara de sondeo

Ilustración del compartimento de secado

La ilustración siguiente muestra el compartimento de secado de la unidad Western.

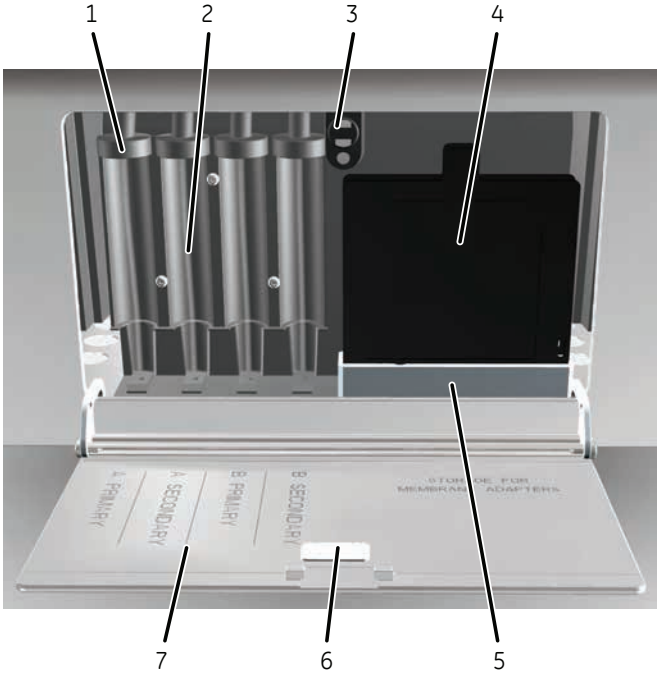


Pieza	Descripción
1	Guías de secador de la membrana
2	Indicador de posición **A** y posición **B** ubicaciones

Ilustración del compartimento de anticuerpos

La ilustración siguiente muestra el compartimento de anticuerpos donde se insertan, antes del sondeo, tubos con 15 ml de solución de anticuerpo que contienen anticuerpos primarios y secundarios (lado izquierdo). Para obtener más información, consulte *Conecte los tubos de solución de anticuerpos, en la página 173*.

El lado derecho del compartimento se usa para almacenaje de Amersham WB membrane adapters (adaptadores de membrana).

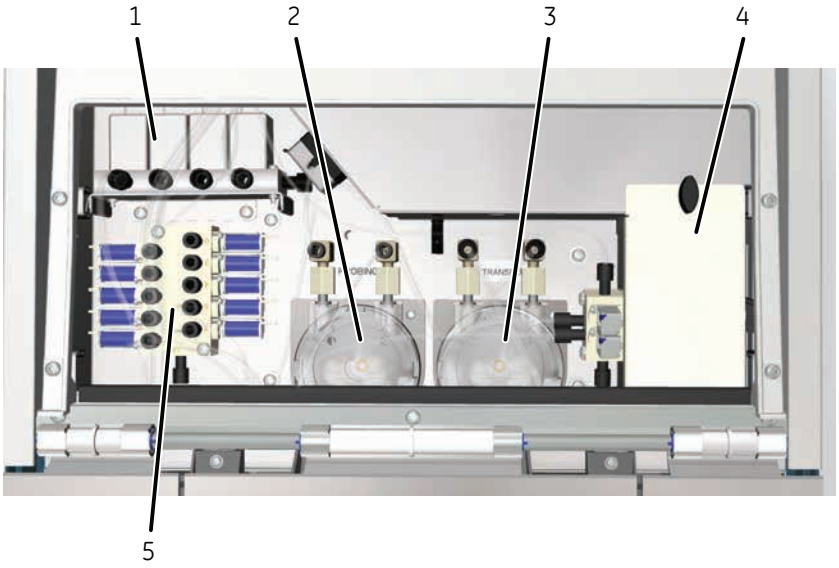


Pieza	Descripción
1	Soporte de tubo
2	Tubos
3	Pestillo de puerta (magnético)
4	Adaptadores de membrana
5	Soporte de adaptadores de membrana
6	Pestillo de puerta

Pieza	Descripción
7	Indicador de posición del tubo de solución de anticuerpos **A PRIMARY**, **A SECONDARY**, **B PRIMARY**, y **B SECONDARY**.

Ilustración del compartimento de servicio

La ilustración siguiente muestra el compartimento de servicio de la unidad Western.



Pieza	Descripción
1	Bloqueo de la válvula de transferencia
2	Bomba de sondeo
3	Bomba de transferencia
4	Tapa del compartimento del filtro de aire
5	Bloqueo de la válvula de sondeo

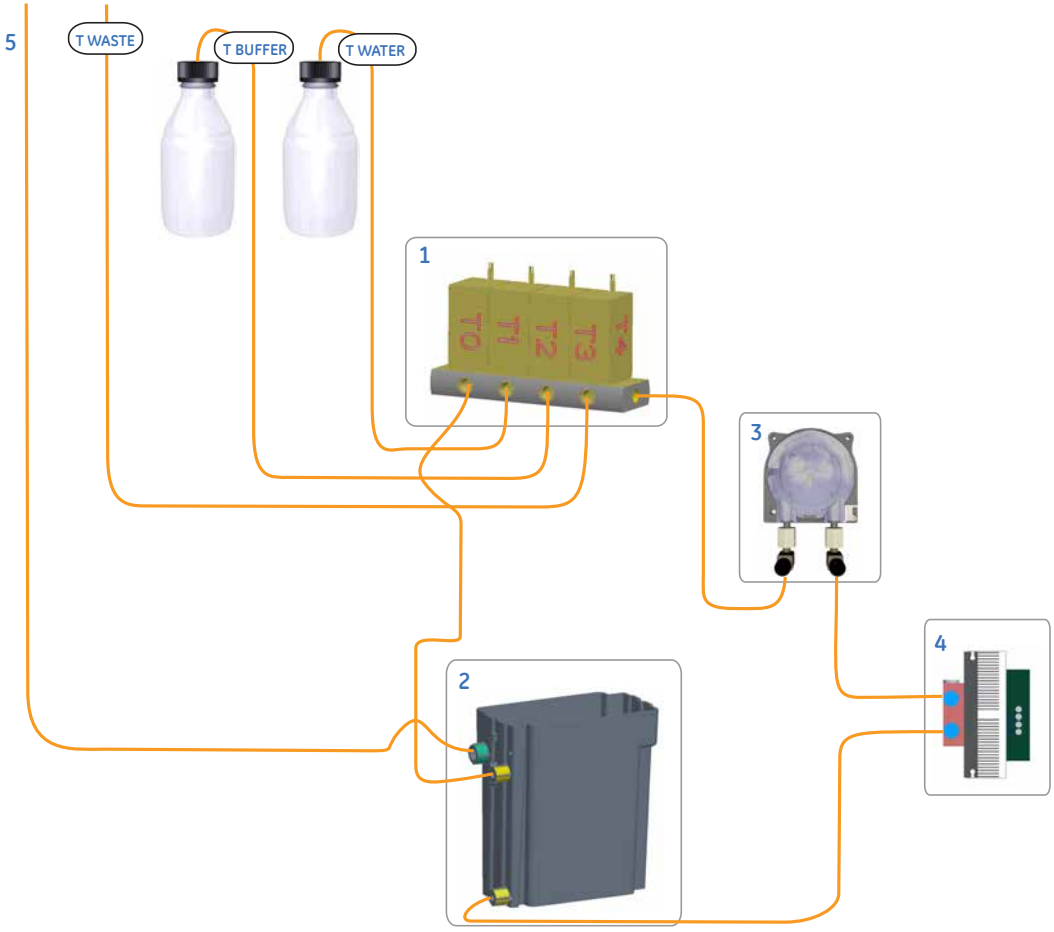
3.3.3 Recorridos de flujos de líquidos

Introducción

Esta sección muestra los recorridos de los flujos de líquidos de transferencia y sondeo en la unidad Western y describe los principios básicos de funcionamiento.

Ilustración del recorrido del flujo de líquido de transferencia

La ilustración siguiente muestra un gráfico detallado de los flujos del proceso de transferencia. El gráfico de flujos muestra interconexiones entre los componentes del instrumento. Las etiquetas blancas se refieren a las etiquetas de los tubos. Los números azules se refieren a los componentes del instrumento.



La tabla siguiente describe los componentes en el gráfico de flujos:

Pieza	Descripción
1	Bloqueo de la válvula de transferencia Para seleccionar qué solución debe bombearse a lo largo del recorrido del flujo de líquido.

Pieza	Descripción
2	Depósito de transferencia
3	Bomba de transferencia Para bombear la solución a través del recorrido del flujo de líquido.
4	Unidad de refrigeración para transferencia Para refrigerar la solución amortiguadora de transferencia y mantenerla a temperatura ambiente.
5	Desagüe del depósito de transferencia

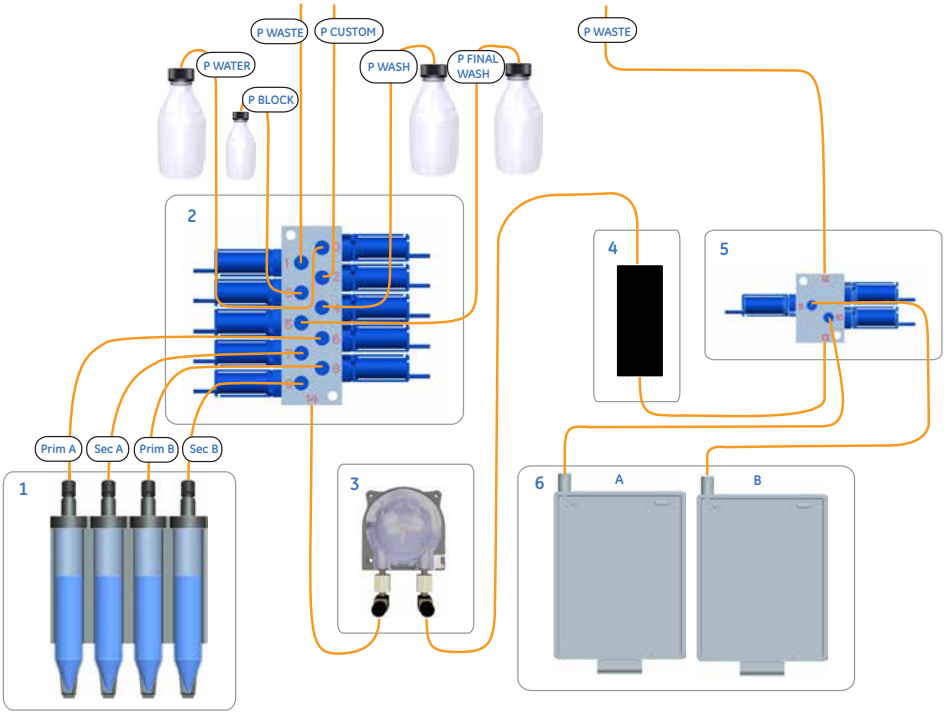
Principio básico del proceso de transferencia

Durante la transferencia, se realiza una transferencia electroforésica de las proteínas separadas en el gel hacia la membrana. El principio básico del proceso de transferencia se describe a continuación.

Fase	Descripción
1	Cuando el Amersham WB transfer holder(s) (bandeja de transferencia) se ha cargado en el depósito de transferencia, el depósito de transferencia se llena con solución amortiguadora de transferencia (el tubo marcado como **T Buffer**).
2	Durante la fase de transferencia, la solución amortiguadora de transferencia es bombeada a través del depósito de transferencia, de la unidad de refrigeración de transferencia, de la bomba de transferencia y del bloque de la válvula de transferencia, y la solución amortiguadora de transferencia circula durante el ciclo. La unidad de refrigeración para transferencia se asegura de que la solución amortiguadora de transferencia se mantenga a temperatura ambiente durante el ciclo.
3	Después de un ciclo y después de la retirada de las bandejas de transferencia, se usa agua ultra pura para limpiar el recorrido del flujo de líquido (se usa el tubo marcado como **T Water** para la limpieza).

Ilustración del recorrido del flujo de líquido de sondeo

La ilustración siguiente muestra un gráfico de flujos detallado para el proceso de sondeo. El gráfico de flujos muestra interconexiones entre los componentes del instrumento. Las etiquetas blancas se refieren a las etiquetas de los tubos. Los números azules se refieren a los componentes del instrumento.



La tabla siguiente describe los componentes en el gráfico de flujos:

Pieza	Descripción
1	Compartimento de anticuerpos con tubos de solución de anticuerpos que contienen anticuerpos primarios y secundarios para las posiciones **A** y **B**.
2	Bloqueo de la válvula de sondeo Se usa para seleccionar la solución que se va a bombear a través del recorrido del flujo.
3	Bomba de sondeo Para bombear la solución a través del recorrido del flujo de líquido.

Pieza	Descripción
4	Sensor de aire Para detectar si existe aire en los tubos. El detector de aire pausa el ciclo si hay una botella de solución vacía.
5	Válvula del selector de cámara de sondeo Para seleccionar si se va a dirigir la solución hacia las cámaras de sondeo o desde las cámaras de sondeo hacia el conducto de salida de residuos.
6	Cámaras de sondeo

Principio básico del proceso de sondeo

Al realizar el sondeo, los anticuerpos primarios se unen a las proteínas sobre la membrana y, a continuación, los anticuerpos secundarios conjugados con CyDye se unen a los anticuerpos primarios.

El principio básico del proceso de sondeo se describe a continuación.

Fase	Descripción
1	La cámara de sondeo se llena previamente con la primera solución, tal y como se introduce en el protocolo de sondeo del software (se utiliza solución de bloqueo como opción predeterminada). El usuario inicia el prellenado de la cámara de sondeo seleccionando la instrucción de software apropiada.
2	Las tarjetas PVDF se insertan en las cámaras de sondeo y se realizan incubaciones secuenciales (incluidos los pasos de lavado) de la membrana con solución de bloqueo, anticuerpos primarios y anticuerpos secundarios.

3.4 Descripción general de accesorios y consumibles

Introducción

En esta sección se ofrece un resumen de los accesorios y consumibles que se deben usar con el Amersham WB analyzer. También contiene información sobre el almacenamiento de los consumibles e información sobre cómo realizar pedidos.

Accesorios y consumibles

La tabla que aparece a continuación enumera los accesorios y consumibles que se usan con el instrumento, en relación con la tarea operacional que se va a realizar. Los accesorios del instrumento se entregan con el sistema y los consumibles se piden por separado.

Los accesorios que se van a instalar se describen en *Sección 4.2 Instalación del hardware, en la página 97* y los accesorios para tareas de mantenimiento por parte del usuario se describen en *Accesorios de mantenimiento, en la página 206*.

Para ver una descripción detallada de los accesorios y consumibles, consulte las secciones subsiguientes.

Tarea	Consumibles necesarios	Consumibles necesarios	Para obtener información detallada, consulte...
Premarcaje de muestras	• Amersham WB Cy5 • Amersham WB labeling buffer (Etiquetado de la solución amortiguadora) • Amersham WB loading buffer (Carga de la solución amortiguadora) • Amersham WB MiniTrap™ kit (opcional)	N/A	Sección 3.5

Tarea	Consumibles necesarios	Consumibles necesarios	Para obtener información detallada, consulte...
Ejecución de electroforesis	• Amersham WB molecular weight markers (Marcadores de peso molecular) • Amersham WB gel card (Tarjeta de gel) • Amersham WB buffer strip (Tira de solución amortiguadora) • Amersham WB loading buffer • Amersham WB paper comb (opcional) (Peine de papel)	Amersham WB buffer strip holder [1] (Soporte de tiras de solución amortiguadora)	Sección 3.6
Western pasos de la transferencia			
Transferencia	• Amersham WB gel card del ciclo de electroforesis • Amersham WB PVDF card (tarjeta PVDF) • Amersham WB transfer paper (Papel de transferencia) • Amersham WB sponge (Esponja) • Soluciones de transferencia preparadas en laboratorio (para recetas, consulte *Recetas de soluciones de transferencia, en la página 147*)	Amersham WB transfer holder[1] (Bandeja de transferencia)	Sección 3.7.1

Tarea	Consumibles necesarios	Consumibles necesarios	Para obtener información detallada, consulte...
Sondeo	• Soluciones de anticuerpos primarios preparadas en laboratorio • Anticuerpo secundario: Amersham WB goat anti-mouse Cy3/Cy5 (cabra anti-ratón Cy3/Cy5) o Amersham WB goat anti-rabbit Cy3/Cy5 (cabra anti-conejo Cy3/Cy5) • Tarjeta PVDF de la fase de transferencia • Soluciones de sondeo preparadas en laboratorio (para asuntos relacionados con recetas, consulte *Sondeo y recetas de soluciones de anticuerpos, en la página 172*)	Tubos para solución de anticuerpos[1]	Sección 3.7.2
Secado	TarjetaPVDF de la fase de sondeo	Amersham WB drying holder (Soporte de secado)	N/A
Análisis de la tarjeta PVDF en la unidad Elpho & scan	Tarjeta PVDF de la fase de secado	Amersham WB membrane adapter[1] (Adaptador de membrana)	Sección 3.7.4
Otros			
Análisis de indicadores de matriz de datos en tarjetas de gel y en paquetes de una tarjeta PVDF (opcional)	N/A	Lector de indicador de matriz (se piden por separado)	Sección 3.8

1 Se incluye con la entrega de Amersham WB analyzer.

Pedido de consumibles

En función de los experimentos que se vayan a realizar, se necesitarán diferentes combinaciones de consumibles. Hay una guía de selección para preparar un kit de consumibles, disponible en www.gelifesciences.com.

Para obtener información sobre pedidos de consumibles por separado, consulte *Amersham WB system User Manual*.

Conservación de consumibles

En la tabla que aparece a continuación se resumen la condiciones de conservación y medioambientales para los diferentes artículos consumibles. La fecha de caducidad de los consumibles está impresa en el envase.

Consumible	Temperatura de almacenamiento	Datos ambientales
Consumibles premarcados	-15 °C a -30 °C	Proteja el contenido de la luz solar directa. Evite la repetición de ciclos de congelación-descongelación del reactivo de tinte Cy5. Se debe usar reactivo de tinte Cy5 diluido y no congelado en un plazo de 30 minutos.
Amersham WB molecular weight markers	-15 °C a -30 °C	Proteja los indicadores de peso molecular (MW) de la luz solar directa. Los marcadores del peso molecular deben conservarse siempre en el congelador. Minimice el tiempo de exposición a temperatura ambiente antes de usar y evite volver a congelar. Los marcadores de peso molecular diluidos en la solución amortiguadora de carga con DTT pueden dispensarse en partes alícuotas para un solo uso, si se han congelado directamente después de la dilución. Las partes alícuotas no deben conservarse durante más de una semana.

Consumible	Temperatura de almacenamiento	Datos ambientales
Amersham WB gel card	De 4°C a 8 °C	Conservar en frigorífico o cuarto frío.
Amersham WB buffer strips	De 4°C a 8 °C	Conservar en frigorífico o cuarto frío.
Amersham WB PVDF card	Temperatura ambiente	Guarde la tarjeta PVDF en el paquete único, dentro de la caja en que se distribuyen. Guarde la caja en un lugar limpio y seco y protegido de la luz.
Amersham WB transfer paper	Temperatura ambiente	Guarde los papeles de transferencia en un lugar seco, en la caja en la cual se entregaron. Protéjalos del polvo.
Amersham WB paper comb	Temperatura ambiente	Guarde los peines de papel en un lugar seco y en la caja en la que se entregaron. Protéjalos del polvo.
Amersham WB sponge	Temperatura ambiente	Protéjalos del polvo y de la luz solar directa.
Amersham WB goat anti-mouse Cy3/Cy5 o Amersham WB anti-rabbit Cy3/Cy5, liofilizados	De 2°C a 8 °C	Proteja los anticuerpos secundarios de la luz.
Anticuerpos reconstituidos secundarios (reconstituidos en agua ultra pura con una concentración de 1 µg/µl)	Almacene las partes alícuotas a una temperatura de entre -15°C y -30°C	Proteja de la luz los anticuerpos reconstituidos secundarios. Las partes alícuotas no deben conservarse durante periodos superiores a 6 meses. Evite la repetición de ciclos de congelación-descongelación.
Anticuerpos primarios	Consulte las instrucciones del fabricante.	Consulte las instrucciones del fabricante.

3.5 Consumibles premarcados

Introducción

Los consumibles premarcados se usan para el premarcado de muestras de proteínas con tinte fluorescente.

Premarcaje fluorescente de muestras:

- permite la detección total de proteínas al analizar la tarjeta de gel
- elimina la necesidad de colorear posteriormente el gel

Uso del premarcaje de proteínas

El premarcaje de proteínas se hace siempre antes de la fase de electroforesis cuando se realizan:

- experimentos de electroforesis
- experimentos Western con normalización de proteínas totales

Consumibles premarcados

Los consumibles para premarcaje se embalan en bolsas aparte de papel metalizado. Cada bolsa de papel metalizado contiene suficientes reactivos para procesar 10 tarjetas de gel (cuando se cargan 14 filas/tarjeta de gel con muestras premarcadas); es decir, 140 reacciones de marcaje individuales.

La tabla que aparece a continuación muestra un resumen del contenido de los consumibles para premarcaje.

Consumible para premarcaje	Contenido	Cantidad
Amersham WB Cy5	0,25 mg/ml (aproximadamente 250 pmol/µl) de tinte Cy5 en DMSO	5 frascos (tapones azules) Solución de tinte Cy5 de 35 µl por envase (suficiente para dos tarjetas de gel)
Amersham WB labeling buffer (Etiquetado de la solución amortiguadora)	Solución amortiguadora basada en Tris (Hidroximetil) Aminometano, que contiene SDS con un pH de 8,7 (a 25° C)	5 frascos (tapones negros) Solución amortiguadora de marcaje de 0,7 ml por envase (suficiente para dos tarjetas de gel)

Consumible para premarcaje	Contenido	Cantidad
Amersham WB loading buffer (Carga de la solución amortiguadora)	50 mM Tris-Cl, 0,25% (w/v) Naranja G, 4% SDS, 0,5 mM Lisina	5 frascos (tapones naranja) Solución amortiguadora de carga de 0,7 ml por envase (suficiente para dos tarjetas de gel)

Consumible para la preparación de la muestra

La tabla siguiente describe el Amersham WB MiniTrap kit.

Consumible para la preparación de la muestra	Función	Cantidad
Amersham WB MiniTrap kit	El kit está diseñado para limpiar de manera rápida y conveniente las muestras de proteína (>5000 M_r) que contienen sustancias interferentes, por ejemplo, imidazol.	• 30 columnas PD MiniTrap G-25 desechables rellenas con medio Sephadex™ G-25 • 1 botella de 10× Amersham WB labeling buffer (14 ml de solución estándar) • Base de la columna, bandeja para desechos y soporte para tubos integrados

3.6 Accesorios y consumibles para electroforesis

Introducción

Los siguientes accesorios y consumibles son necesarios para la electroforesis de proteínas:

- Amersham WB buffer strip
- Amersham WB buffer strip holder
- Amersham WB molecular weight markers
- Amersham WB gel card
- Amersham WB paper comb, si se va a realizar una limpieza del pocillo de muestras
- Amersham WB loading buffer (consulte *Sección 3.5 Consumibles premarcados, en la página 65* para obtener información sobre la solución amortiguadora de carga)

En esta sección

Esta sección contiene las siguientes subsecciones:

Sección	Consulte la página
3.6.1 Amersham WB molecular weight markers	68
3.6.2 Amersham WB gel card	71
3.6.3 Amersham WB buffer strip y Amersham WB buffer strip holder	74
3.6.4 Amersham WB paper comb	76

3.6.1 Amersham WB molecular weight markers

Introducción

Amersham WB molecular weight markers son una mezcla de nueve proteínas nativas y recombinantes, M_r: de 10 000 a 225 000, marcadas tanto con Cy3 como con Cy5, para la determinación del peso molecular de las proteínas en las tarjetas de gel y en las tarjetas PVDF analizadas.

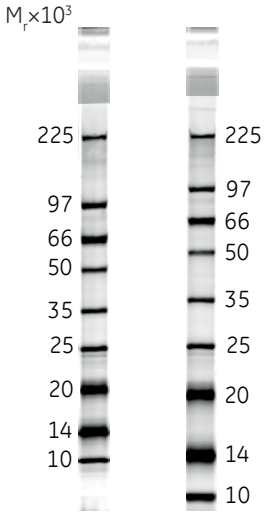
El software calcula las curvas de calibración del peso molecular. Cuando se utilizan dos curvas de calibración del peso molecular, se usan datos interpolados de las curvas para crear curvas de calibración específicas a la línea de la muestra. A continuación, se calculan los pesos moleculares de todas las bandas detectadas en cada línea.

Contenido

Cada envase de Amersham WB molecular weight markers contiene solución suficiente para procesar 10 tarjetas de gel (cuando se cargan 2 líneas/tarjeta de gel con Amersham WB molecular weight markers).

Ilustración de los marcadores del peso molecular

La ilustración que aparece a continuación muestra los tamaños de Amersham WB molecular weight markers separados en una tarjeta de gel con gradiente (imagen de la izquierda) y una tarjeta de gel homogénea (imagen de la derecha):



Proteínas marcadoras del peso molecular

La tabla siguiente muestra las proteínas que se incluyen:

Proteína	Peso molecular ($M_r \times 10^3$)
Proteína recombinante	225
Fosforilasa b, músculo de conejo	97
Albúmina, suero bovino	66
Proteína recombinante	50
Proteína recombinante	35
Proteína recombinante	25
Inhibidor de tripsina, soja	20
Alfa lactoalbúmina, leche de vaca	14

Proteína	Peso molecular ($M_r \times 10^3$)
Proteína recombinante	10

3.6.2 Amersham WB gel card

Introducción

Esta sección describe los detalles sobre la tarjeta de gel.

Tipos de tarjeta de gel

Hay dos tipos de tarjetas de gel:

- Tarjeta de gel homogéneo: Amersham WB gel card 14, 13.5%
- Tarjeta de gel con gradiente: Amersham WB gel card 14, 8-18%

Composición del gel

Los geles vienen prefabricados en el cartucho de tarjetas de gel. Los geles son de poliacrilamida/bisacrilamida que contienen una solución amortiguadora de triacetato.

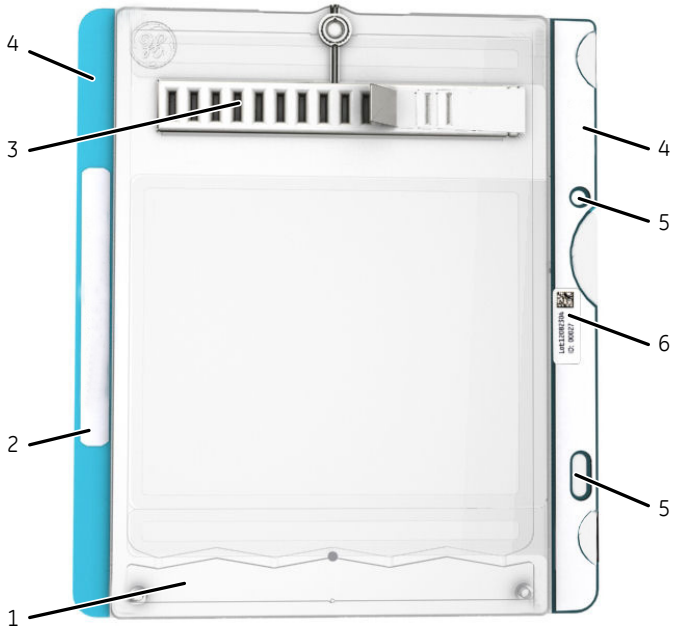
Resolución de la separación de proteínas

La tabla siguiente muestra la resolución de separación de proteínas para los tipos de tarjetas de gel:

Tipo de tarjeta de gel	Resolución de separación, $M_r \times 10^3$
Amersham WB gel card 14, 13.5%, homogénea	De 10 a 225
Amersham WB gel card 14, 8-18%, con gradiente	• De 6 a 225 (proteínas premarcadas) • De 3,5 a 225 (Western experimentos, detección de anticuerpos)

Ilustración del lado frontal de una tarjeta de gel

La ilustración que aparece a continuación muestra la tarjeta de gel con el lado frontal encarado hacia arriba:



Pieza	Descripción
1	Superficie de escritura para que haga sus propias anotaciones ***Nota:*** *Utilice siempre un lápiz para escribir las anotaciones.* La anotación también puede introducirse en el software.
2	Etiqueta con el tipo de tarjeta de gel
3	Tapa del pocillo de muestras que debe quitarse cuando se ha cerrado el tapón de sellado de la unidad Elpho & scan, antes de aplicar las muestras.
4	Asas para gel que facilitan la manipulación del gel cuando se ha retirado de su soporte para la transferencia Western.

Pieza	Descripción
5	Orificios guía para la colocación correcta de las tarjeta de gel en el cargador del Elpho & scan y en la bandeja de transferencia.
6	Marcaje con indicador de matriz de datos, número de lote e ID

Ilustración del reverso de una tarjeta de gel

La ilustración que aparece a continuación muestra la tarjeta de gel con el lado posterior hacia arriba:

Pieza	Descripción
1	Películas protectoras que se retiran antes de la electroforesis para permitir el contacto entre el gel y las tiras de solución amortiguadora.
2	Película protectora que se retira al preparar el sándwich de transferencia (solo pertinente a los experimentos Western).

3.6.3 Amersham WB buffer strip y Amersham WB buffer strip holder

Introducción

Los soportes de las tiras de solución amortiguadora sirven para sujetarlas en posición durante el ciclo de electroforesis. Los soportes de tiras de solución amortiguadora tienen electrodos integrados, permitiendo así que haya contacto entre el electrodo y la tira de solución amortiguadora y que exista una corriente eléctrica para realizar el ciclo.

Las tiras de solución amortiguadora se cargan en los soportes antes de comenzar el ciclo y se eliminan después del ciclo. La forma del soporte guía al usuario en la colocación de tiras de solución amortiguadora en los soportes y al colocar los soportes en la unidad Elpho & scan.

Para obtener más información, consulte *Preparaciones antes de comenzar la electroforesis, en la página 135*.

Solución amortiguadora utilizada en las tiras de solución amortiguadora

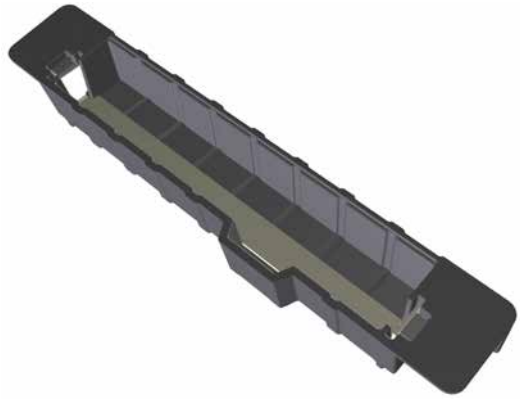
La solución amortiguadora que se utiliza en las tiras de solución amortiguadora es de tris-tricina.

Ilustración de las tiras de solución amortiguadora

La ilustración siguiente muestra una tira de solución amortiguadora.

Ilustración de los soportes de tiras de solución amortiguadora

La ilustración siguiente muestra un soporte de tiras de solución amortiguadora.



3.6.4 Amersham WB paper comb

Introducción

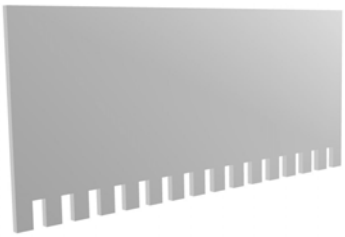
El peine de papel se usa para limpiar los pocillos de muestras tras haber migrado las proteínas al gel durante algunos minutos. Se recomienda realizar la limpieza del pozo de muestras con el fin de eliminar el exceso de tinte cuando se utilizan muestras premarcadas. De este modo se reduce el fondo, que mejora la detección y cuantificación de proteínas abundantes bajas (<1 ng/banda) y proteínas de peso molecular bajo (M_r<40 000).

Por lo general, la limpieza del pocillo de muestras mejora la resolución de la banda, también para muestras no marcadas de concentraciones altas de proteína o volúmenes elevados de muestra.

Para obtener más información sobre cómo usar el peine de papel, consulte *Comenzar y monitorizar la electroforesis y el análisis de gel, en la página 142*.

Ilustración del peine de papel

La ilustración que aparece a continuación muestra un peine de papel.



3.7 Accesorios y consumibles para los pasos de la transferencia Western

Introducción

En esta sección se describen los accesorios y consumibles que se usan para la transferencia de proteínas desde el gel hasta la membrana, el sondeo de la membrana con anticuerpos primarios y secundarios y el análisis de las tarjetas PVDF.

En esta sección

Esta sección contiene las siguientes subsecciones:

Sección	Consulte la página
3.7.1 Accesorios y consumibles para transferencia	78
3.7.2 Anticuerpos secundarios – sondeo	83
3.7.3 Soporte de secado – secado de la tarjeta PVDF	85
3.7.4 Adaptador de membrana – análisis de tarjeta PVDF	86

3.7.1 Accesorios y consumibles para transferencia

Introducción

En esta sección se describen:

- Amersham WB transfer holder (accesorio)
- Amersham WB PVDF card (consumible)
- Amersham WB transfer paper (consumible)
- Amersham WB sponge (consumible)

Amersham WB transfer holder

La bandeja de transferencia se usa durante la transferencia. Contiene el sándwich de transferencia (esponja, papel de transferencia, tarjeta de gel, tarjeta PVDF, papel de transferencia y esponja) preparados antes de comenzar la transferencia. Las proteínas por separado se transfieren desde el gel hasta la membrana durante el ciclo de transferencia.

Los pasadores guía de la bandeja de transferencia sirven para asegurar que la tarjeta de gel y la tarjeta PVDF estén posicionadas correctamente cuando se prepara el sándwich de transferencia.

Al usar el rodillo integrado (al desplazar el rodillo sobre el sándwich en las pistas del rodillo), se eliminan las burbujas de aire y se aplicar presión (que es reproducible) sobre la tarjeta de gel y la tarjetaPVDF para que el proceso de transferencia sea uniforme.

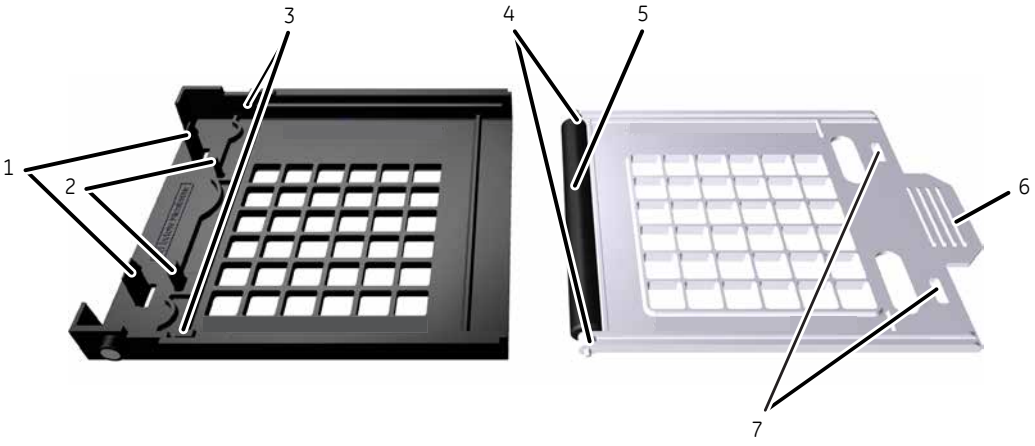
Para obtener más información sobre la preparación del sándwich de transferencia, consulte *Comience a preparar el sándwich de transferencia, en la página 156*.

Ilustración de la bandeja de transferencia cuando está cerrada

La imagen que aparece a continuación muestra la bandeja de transferencia cuando está cerrada:

Ilustración de la bandeja de transferencia cuando está desmontada

La imagen que aparece a continuación muestra la bandeja de transferencia cuando ha sido desmontada.



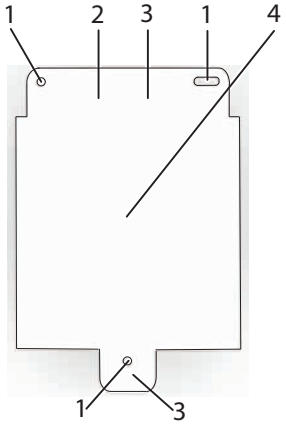
La tabla siguiente describe las diferentes partes de la bandeja de transferencia.

Pieza	Función
Parte inferior (tapa negra)	
1	Pestillos
2	Pasadores guía para la tarjeta de gel y la tarjeta PVDF
3	Pistas del rodillo (para los pasadores de rodillo)
Parte superior (tapa blanca)	
4	Pasadores del rodillo (encajan en las pistas de rodillos para ensamblar las tapas)
5	Rodillo
6	Manija
7	Orificios para los pestillos

Amersham WB PVDF card

Tarjeta En la fase de transferencia, las proteínas se transfieren desde el gel al área de transferencia de la tarjeta PVDF. La tarjeta PVDF es una membrana PVDF de baja fluorescencia.

La siguiente ilustración muestra las diferentes partes de la tarjeta PVDF y el paquete único de la tarjeta PDVF.



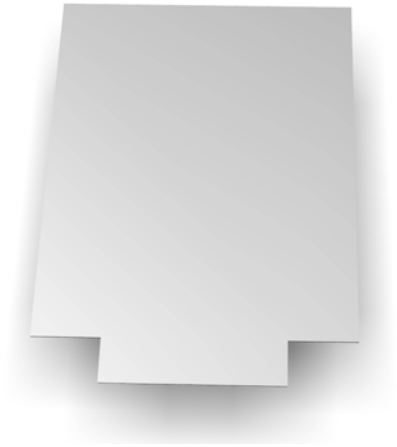
La tabla siguiente describe las diferentes partes de la tarjeta PVDF y el paquete único de la tarjeta PDVF.

Pieza	Descripción
1	Orificios guía ***Nota:*** *Los orificios guía ayudan a colocar correctamente la tarjeta en la bandeja de transferencia, en la cámara de sondeo, en el soporte de secado y en el cargador del Elpho & scan.*
2	Superficie de escritura para que haga sus propias anotaciones ***Nota:*** *Utilice siempre un lápiz para escribir las anotaciones.* La anotación también puede introducirse en el software.
3	Asas de la tarjeta
4	Área de transferencia
5	Paquete único de la tarjeta PDVF
6	Tarjeta PDVF con papeles de protección
7	Etiqueta con el Código del producto, Número de lote, Número de identificación e Indicador de matriz de datos (contiene el Código del producto, Número de lote y Número de ID)

Amersham WB transfer paper

Los papeles de transferencia se usan al preparar el sándwich de transferencia.

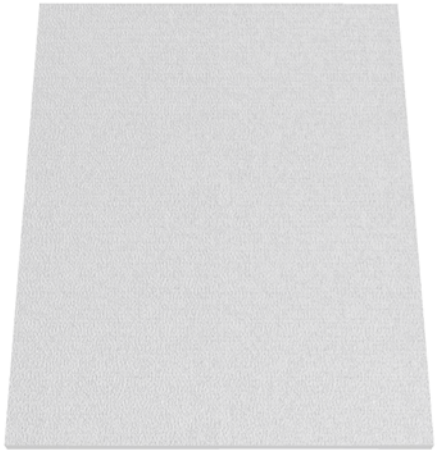
La ilustración que aparece a continuación muestra el papel de transferencia:



Amersham WB sponge

Se utilizan dos esponjas al preparar el sándwich de transferencia. Las esponjas deben sustituirse después de cada ciclo.

La ilustración que aparece a continuación muestra una esponja.



3.7.2 Anticuerpos secundarios – sondeo

Introducción

Las proteínas objetivo se identifican sondeando la membrana con anticuerpos primarios y con anticuerpos conjugados CyDye secundarios específicos de una especie. Al usar dos especies diferentes de anticuerpos primarios (ratón y conejo) y un anticuerpo conjugado secundario Cy3y un anticuerpo conjugado secundario Cy5, se puede realizar un análisis multiplex que detecte simultáneamente dos proteínas en la misma membrana.

Están disponibles las siguientes variantes de anticuerpos conjugados secundarios CyDye:

- Amersham WB goat anti-mouse Cy3 (cabra anti-ratón Cy3)
- Amersham WB goat anti-rabbit Cy3 (cabra anti-conejo Cy3)
- Amersham WB goat anti-mouse Cy5 (cabra anti-ratón Cy5)
- Amersham WB goat anti-rabbit Cy5 (cabra anti-conejo Cy5)

CyDye (conjugado con los anticuerpos secundarios)

El CyDye conjugado con los anticuerpos secundarios tiene sus propias longitudes de onda de excitación y emisión en el espectro de luz visible y se diferencian espectralmente la una de la otra, lo cual resulta en un mínimo intercambio de comunicación; véase la tabla que aparece a continuación.

CyDye	Longitud de onda de resalte	Longitud de onda de emisión
Cy3	550 nm	570 nm
Cy5	649 nm	670 nm

Después de la excitación, las señales de emisión fluorescente resultantes son capturadas mediante el escáner fluorescente multicanal en la unidad Elpho & scan.

El CyDye tiene una alta fotoestabilidad. La señal en la membrana sondeada es estable durante un periodo de >3 meses, si se conserva en la oscuridad.

Preparación y conservación de anticuerpos reconstituidos secundarios

Reconstituya los anticuerpos secundarios en 150 µl de agua ultra pura por envase, hasta una concentración de 1 µg/µl. Mezcle con un agitador vorticial y centrifugue los anticuerpos secundarios reconstituidos.

Se recomienda conservar los anticuerpos secundarios en partes alícuotas a una temperatura de entre -15°C y -30°C y protegerlos de la luz. Evite la repetición de ciclos de congelación-descongelación.

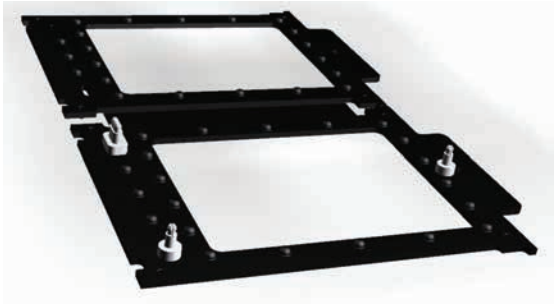
3.7.3 Soporte de secado – secado de la tarjeta PVDF

Introducción

El Amersham WB drying holder (soporte de secado) orienta y fija la tarjeta PVDF en la posición correcta para obtener el mejor resultado posible de secado.

Ilustración del soporte de secado

Las ilustraciones que aparecen a continuación muestran el soporte de secado cuando está cerrado (arriba) y el soporte de secado cuando está abierto (abajo):



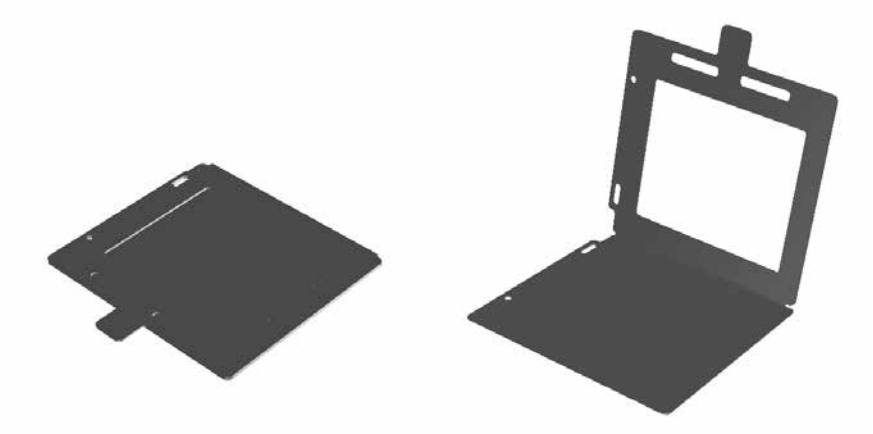
3.7.4 Adaptador de membrana – análisis de tarjeta PVDF

Introducción

El Amersham WB membrane adapter (adaptador de membrana) orienta y fija la tarjeta PVDF en la posición correcta para lograr el mejor análisis y detección posibles en la unidad Elpho & scan.

Ilustración del adaptador de la membrana

Las ilustraciones que aparecen a continuación muestran el adaptador de la membrana cuando está cerrado (izquierda) y cuando está abierto (derecha):



3.8 Otros accesorios

Lector de indicador de matriz

El lector del indicador de matriz se usa para introducir en el software la información de la tarjeta de gel y de la tarjeta PVDF (código de producto, ID y número de lote), escaneando los indicadores de matriz de datos que están en la tarjeta de gel y en la etiqueta del paquete único de la tarjeta PVDF. Debe pedirse por separado (consulte *Información sobre pedidos* en Amersham WB system User Manual).

La ilustración que aparece a continuación muestra el lector del indicador de matriz.

Soporte del filtro de entrada

Los soportes de filtros de entrada, con los filtros de entrada, están acoplados a los tubos de entrada que se insertan en las botellas que se encuentran en el portabotellas. Por el filtro de entrada se filtran las partículas y el soporte del filtro de entrada es un peso que mantiene el tubo en posición en la parte inferior de las botellas.

La ilustración que aparece a continuación muestra un soporte de filtro de entrada, con un filtro de entrada instalado y acoplado al tubo.

Soportes para tubería

Para compensar las tensiones que se producen al colocar los tubos en las botellas, y para evitar que estas se caigan cuando disminuye el nivel de líquido, se debe acoplar un soporte de tubo a los tubos. Véase a continuación la ilustración:

Accesorios adicionales que debe instalar el usuario

Los electrodos de transferencia y las guías de secado de la membrana deben ser instalados por el usuario.

Para obtener más información, consulte *Instalar electrodos de transferencia, en la página 100* y *Instale guías para el secador de membrana en el compartimento de secado, en la página 108*.

Accesorios para tareas de mantenimiento por parte del usuario

Para ver una descripción de los accesorios para tareas de mantenimiento por parte del usuario, consulte *Accesorios de mantenimiento, en la página 206*.

3.9 Descripción general del software

Introducción

En esta sección se ofrece una descripción general del Amersham WB software.

Ilustración de la pantalla de inicio del software

En la pantalla de inicio del software es posible crear nuevos experimentos y abrir experimentos previamente guardados. Para obtener información sobre cómo crear y configurar un experimento, consulte *Crear y configurar un experimento, en la página 125*.

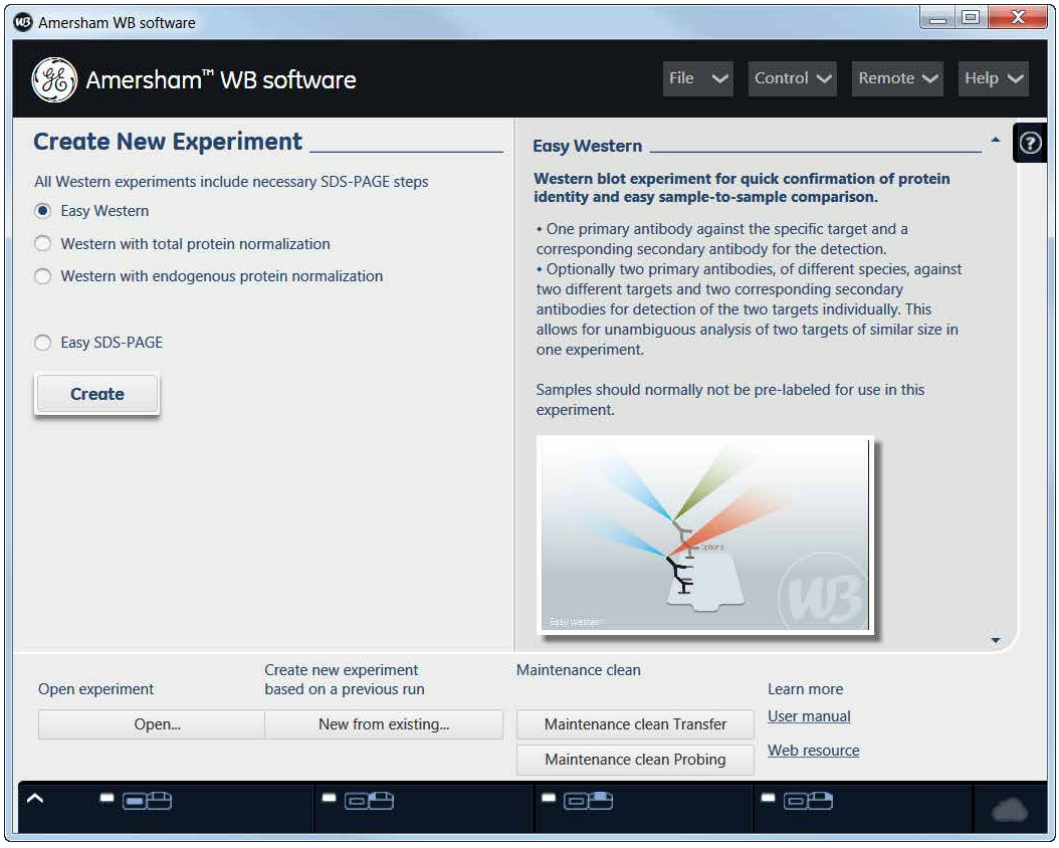
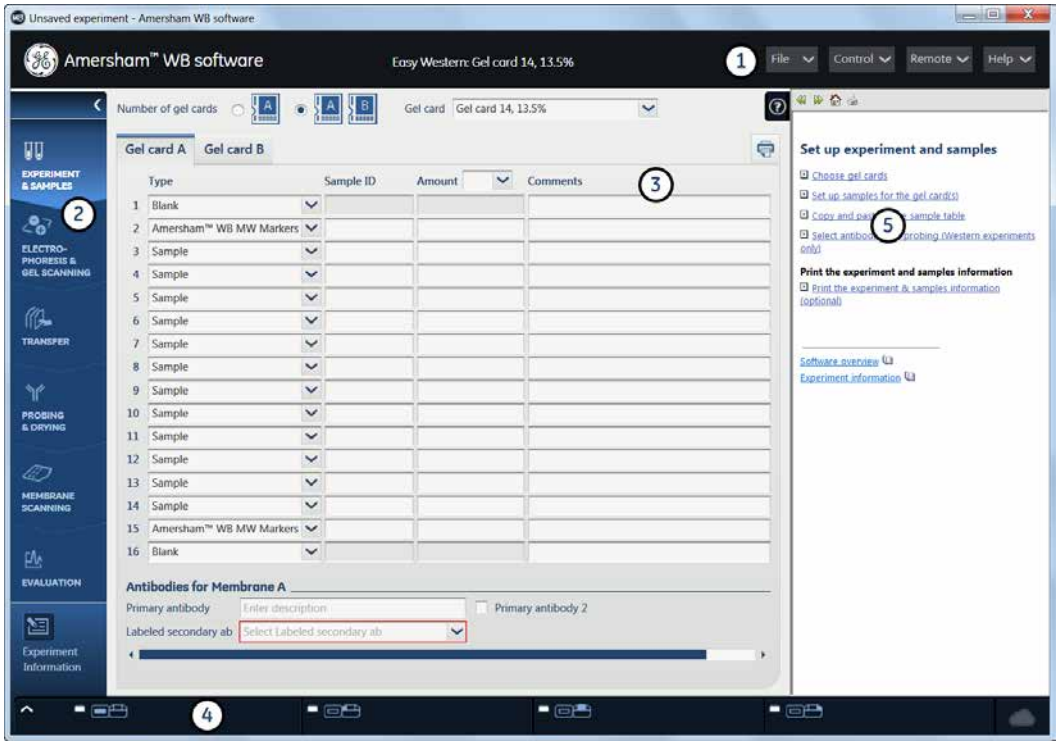

Amersham WB software
Amersham™ WB software
File
Control
Remote
Help
Create New Experiment
All Western experiments include necessary SDS-PAGE steps
Easy Western
Western with total protein normalization
Western with endogenous protein normalization
Easy SDS-PAGE
Create
Easy Western
Western blot experiment for quick confirmation of protein identity and easy sample-to-sample comparison.
• One primary antibody against the specific target and a corresponding secondary antibody for the detection.
• Optionally two primary antibodies, of different species, against two different targets and two corresponding secondary antibodies for detection of the two targets individually. This allows for unambiguous analysis of two targets of similar size in one experiment.
Samples should normally not be pre-labeled for use in this experiment.
Open experiment
Open...
Create new experiment based on a previous run
New from existing...
Maintenance clean
Maintenance clean Transfer
Maintenance clean Probing
Learn more
User manual
Web resource

Ilustración de la pantalla principal del software

La ilustración que aparece a continuación muestra la pantalla principal del software para un experimento Western.



Área	Descripción
1	***Barra del menú*** La barra de menús se compone de cuatro menús: • ***File***: crear, abrir y guardar experimentos. Imprimir información y salir de la aplicación. • ***Control***: interrumpir el ciclo, vaciar la cámara de transferencia y de sondeo, iniciar la limpieza del recorrido de flujo de transferencia y de sondeo. • ***Remote***: conectarse y desconectarse al acceso remoto del instrumento. Recuperar los códigos de acceso al instrumento y gestionar usuarios remotos. Editar la configuración de la conexión remota. ***Nota:*** *Solamente visible cuando hay un instrumento conectado.* • ***Help***: Generar informes del sistema. Abra el panel de ayuda, el manual del usuario y el ***About Amersham WB*** cuadro de diálogo.
2	***Panel de flujo de trabajo*** El panel de flujo de trabajo muestra los diferentes pasos del flujo de trabajo del software en un experimento. Antes de comenzar un ciclo (por ejemplo, electroforesis, transferencia, sondeo, secado o análisis de membranas), es posible avanzar y retroceder para ver y editar la información y los parámetros en los diferentes pasos del flujo de trabajo. Siempre es posible retroceder y editar el texto de los campos de información en los diferentes pasos del flujo de trabajo, durante un ciclo y después de este. Por ejemplo, la tabla de muestras puede rellenarse después de que haya comenzado la electroforesis. ***Nota:*** *Para experimentos de electroforesis, los pasos del flujo de trabajo* ***TRANSFER***, ***PROBING & DRYING*** *y* ***MEMBRANE SCANNING*** *aparecen atenuados en pantalla. Estos pasos solamente están incluidos en los experimentos Western.*
3	***Área de trabajo*** El área de trabajo muestra la información en forma de texto, los parámetros y los controles del paso del flujo de trabajo que se muestra en ese momento.

Área	Descripción
4	***Panel de estado del instrumento*** El panel de estado del instrumento muestra el estado de conexión del instrumento. Cuando el instrumento está conectado, se muestra el estado de cada módulo de hardware (compartimento de electroforesis y de análisis, depósito de transferencia, compartimento de sondeo y compartimento de secado) y el progreso de cualquier ciclo en los módulos. Pueden abrirse varios experimentos al mismo tiempo. Cada experimento requiere que se inicie de nuevo el software. El panel de estado del instrumento mostrará el estado del instrumento en todos los experimentos abiertos. Se puede utilizar un módulo de hardware por cada experimento a la vez. Esto significa que se pueden ejecutar en paralelo cuatro pasos diferentes del flujo de trabajo de cuatro experimentos diferentes.
5	***Panel de ayuda*** El panel de ayuda muestra las instrucciones de ayuda para la pantalla que se muestra en ese momento en el área de trabajo. Al seleccionar un nuevo paso del flujo de trabajo, las instrucciones de ayuda se actualizan automáticamente con el fin de mostrar la ayuda para la pantalla activa. ***Consejo:*** *Para ver el manual de usuario que contiene información detallada sobre el sistema, seleccione* ***Help:View user manual*** *en la barra de menús, o pulse* ***Ctrl+F1****.*

4 Instalación

Acerca de este capítulo

En este capítulo se describe la instalación del Amersham WB system.

Contenido de este capítulo

Este capítulo contiene las siguientes secciones:

Sección	Consulte la página
4.1 Preparación del lugar	94
4.2 Instalación del hardware	97
4.3 Instalación del software	111

4.1 Preparación del lugar

¿Por qué es necesario preparar el lugar?

Se debe planificar y preparar la ubicación en el laboratorio antes de instalar el Amersham WB system. Solo se pueden alcanzar las especificaciones de rendimiento del sistema si el entorno del laboratorio cumple los requisitos que se mencionan en esta sección. Respete siempre cualquier normativa local relativa a la seguridad.

Requisitos de la habitación

ADVERTENCIA

Si se va a utilizar metanol u otros productos químicos que necesitan ventilación, coloque el Amersham WB analyzer en una sala con ventilación para escape de humos.

Las unidades del instrumento no deben estar expuestas a la luz solar directa. El polvo de la atmósfera debe mantenerse al mínimo.

Los límites de márgenes de temperatura y humedad permitidos están especificados en la siguiente tabla.

Parámetro	Rango permitido
Temperatura ambiente de funcionamiento	de 15 °C a 32 °C Para un rendimiento óptimo: de 16°C a 28°C
Temperatura ambiente, almacenamiento y transporte	de -25 °C a +60 °C
Humedad relativa de funcionamiento	De 20% a 80%, sin condensación Para un rendimiento óptimo: de 20% a 70%, sin condensación
Altitud	Máximo 2.000 m
Datos ambientales	Sólo para uso en interiores

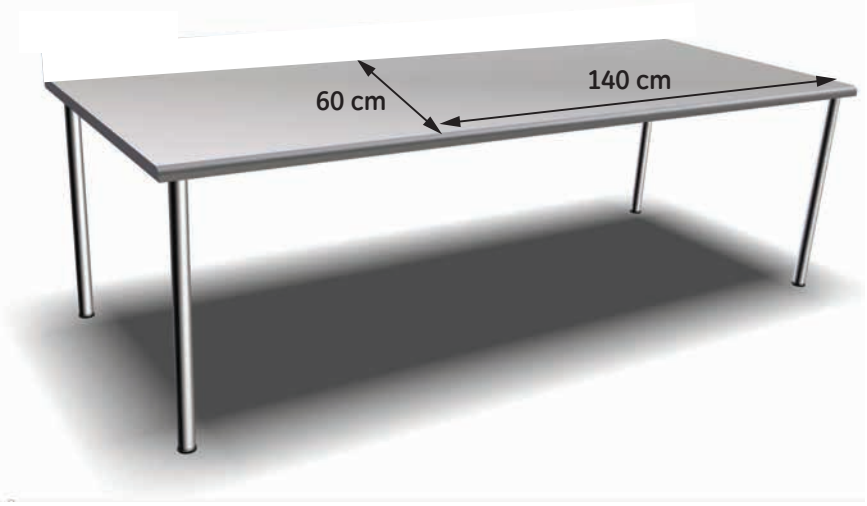
Requisitos de espacio

ADVERTENCIA

No bloquee el acceso al interruptor de alimentación ni al cable de alimentación. El interruptor de alimentación debe ser de fácil acceso en todo momento. El cable de alimentación con enchufe debe ser fácil de desconectar en todo momento.

Las unidades del instrumento deben colocarse sobre una mesa de laboratorio. La mesa debe ser plana, nivelada y estable, estar limpia y ser capaz de soportar el peso del Amersham WB system (unidades del instrumento: 45 kg + peso del ordenador portátil y de los líquidos colocados sobre la unidad Western).

Para conocer los requisitos de espacio, lea a continuación. Deje al menos 10 cm de espacio por detrás de las unidades del instrumento para que haya ventilación. El espacio necesario para las dos unidades es de 90 cm. Sin embargo, se recomienda 140 cm de mesa disponible para que haya suficiente espacio para la preparación de reactivos, manipulación de la tarjeta de gel, etc.



Requisitos de alimentación

Consulte *Sección 7.1 Especificaciones del sistema, en la página 221*.

Requisitos del ordenador

Parámetro	Datos
Sistema operativo	Windows 7 Professional, 32-bit or 64-bit, versión en inglés
Navegador de Internet	Windows Internet Explorer 8 o superior
Resolución de pantalla	1280 × 800 o superior
Rendimiento	Mínimo: 2 GB de memoria física Recomendación: 4 GB de memoria física

Nota: *El ordenador debe instalarse, colocarse y utilizarse conforme a las instrucciones y especificaciones establecidas por el fabricante del ordenador.*

4.2 Instalación del hardware

Desembalar el Amersham WB analyzer

Consulte las instrucciones de desembalaje del *Amersham WB analyzer*.

Levante las unidades del instrumento y colóquelas sobre la mesa

ADVERTENCIA

Asegúrese de que el sistema esté colocado sobre una mesa estable y plana, con espacio adecuado para la ventilación.

ADVERTENCIA

No bloquee el acceso al interruptor de alimentación ni al cable de alimentación. El interruptor de alimentación debe ser de fácil acceso en todo momento. El cable de alimentación con enchufe debe ser fácil de desconectar en todo momento.

PRECAUCIÓN

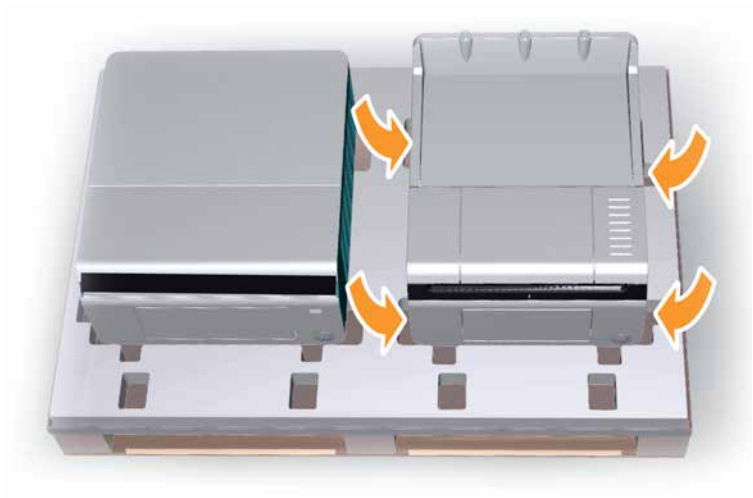
Equipo de Protección Personal (EPP). Durante el llenado, vaciado, transporte o traslado del sistema, debe utilizar siempre:

- Calzado de protección, preferiblemente con recubrimiento de acero.
- Guantes de trabajo para protegerse de los bordes afilados.
- Guantes protectores

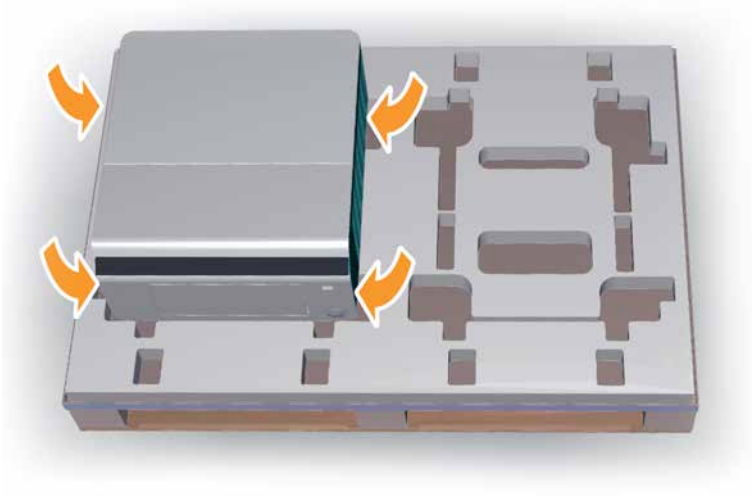
PRECAUCIÓN

Objeto pesado. Para levantar las unidades del instrumento de forma segura son necesarias dos personas.

Paso	Acción
1	Levante las unidades del instrumento manualmente utilizando el espacio para levantamiento que se encuentra a su lado. Asegúrese de que las unidades se colocan sobre una mesa estable y plana.
2	Levante la primera unidad del instrumento. Agarre el instrumento por debajo y por los lados, utilizando las cavidades en la espuma. Colóquelo sobre una mesa de laboratorio.



3	Levante la otra unidad del instrumento y colóquela sobre una mesa de laboratorio.



Paso	Acción
4	Para que haya una buena ventilación, la unidad Elpho & scan tiene que ser colocada a la izquierda y la unidad Western a la derecha. Deje al menos 10 cm de espacio por detrás de las unidades del instrumento para que haya ventilación. No bloquee el acceso al interruptor de alimentación ni al cable de alimentación.
5	Ajuste las patas para nivelar las unidades horizontalmente. Esto es especialmente importante para la unidad Western.
6	Si no está restringido por el fabricante y si el ordenador es un portátil, este puede colocarse en la parte superior de la unidad Elpho & scan. Consulte las especificaciones del ordenador relacionadas con el entorno adecuado. Si se va a usar un ordenador encima de una mesa, el monitor y el teclado pueden colocarse sobre la parte superior de la unidad Elpho & scan. El ordenador en sí no debe colocarse en la parte superior.

Retirar el dispositivo de seguridad de transporte de la unidad Elpho & scan

Para proteger los componentes frágiles del escáner en la unidad Elpho & scanse ha acoplado un dispositivo de seguridad para el transporte.

Retire con cuidado el dispositivo de seguridad durante el transporte antes de encender la unidad.

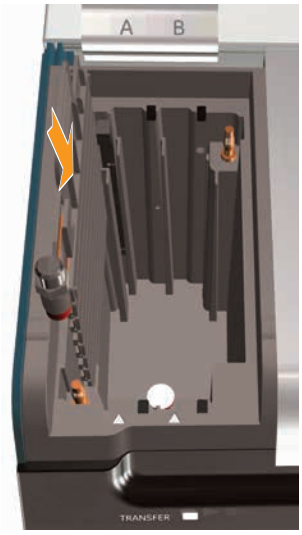
Instalar electrodos de transferencia

ADVERTENCIA

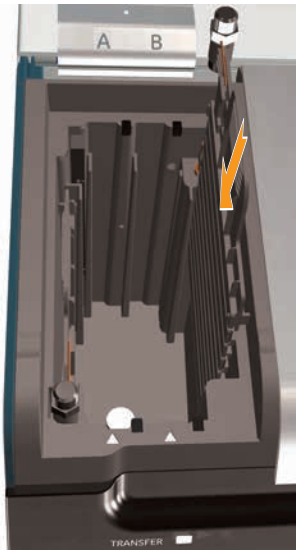
Desconecte la alimentación. Recuerde siempre desconectar la corriente eléctrica del instrumento antes de reemplazar cualquier componente, a menos que se indique lo contrario en la documentación del usuario.

Paso	Acción
1	Abrir la tapa del depósito de transferencia.

Paso	Acción
2	Inserte el electrodo izquierdo de transferencia en el extremo izquierdo del depósito de transferencia y presiónelo hacia abajo.



3	Inserte el electrodo derecho de transferencia en el extremo derecho del depósito de transferencia y presiónelo hacia abajo.



4	Cierre la tapa del depósito de transferencia.

Conecte las unidades del instrumento al ordenador y enchufe los cables de alimentación

ADVERTENCIA

Protección a tierra y cable de alimentación.

El Amersham WB analyzer siempre debe estar conectado a un toma de corriente con descarga a tierra.

Utilice solamente el cable de alimentación de 3 hilos oficialmente autorizado, suministrado o aprobado por GE, o que cumpla todos los requisitos de los códigos locales sobre electricidad.

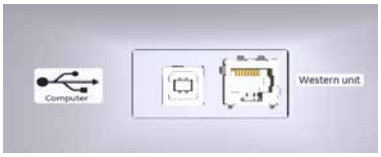
ADVERTENCIA

Voltaje de alimentación. Asegúrese de que el voltaje de alimentación en el enchufe de la pared se corresponde con la especificación del instrumento antes de conectar el cable de alimentación.

AVISO

Cualquier ordenador que se utilice con el equipo deberá cumplir la normativa IEC/EN/UL/CSA 60950-1 u otras regulaciones relativas a la seguridad. Deberá instalarse y utilizarse conforme a las instrucciones del fabricante.

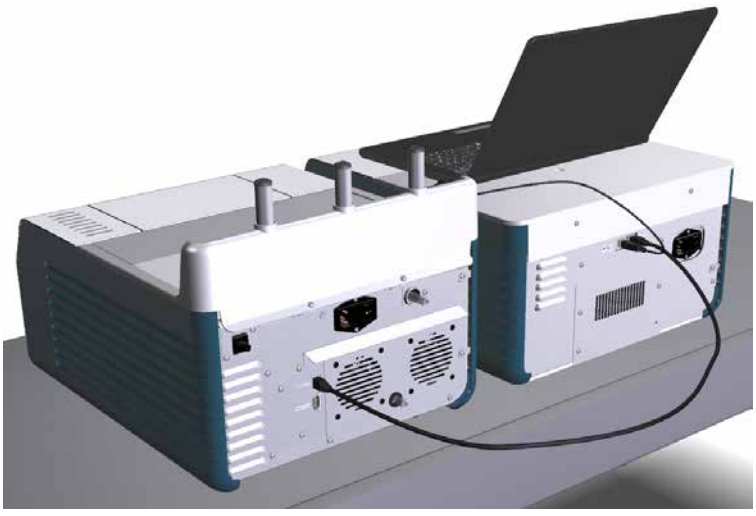
Paso	Acción
1	Conecte el ordenador con la unidad Elpho & scan (contacto: **Computer**) con el cable USB suministrado.



Nota:

Cuando está conectado al Amersham WB analyzer, se recomienda desactivar en el ordenador el modo de ahorro de energía o estado de suspensión, o configurarlo para que ocurra a las 3 horas. Al entrar en estado de suspensión, se interrumpirá la conexión de acceso remoto al instrumento, lo cual significa que no se cargará el estado del ciclo hasta que el ordenador esté activo de nuevo.

2	Conectar la unidad Elpho & scan (contacto: **Western unit**) con la unidad Western (contacto: **Elpho and scan unit**) con el cable Ethernet suministrado.



Paso	Acción
3	Enchufe los cables de alimentación a sus conectores en las unidades.
4	Conecte los cables de alimentación a enchufes de pared con toma a tierra. Consulte *Sección 7.1 Especificaciones del sistema, en la página 221* para ver la información relacionada con el voltaje y la frecuencia.

Nota: *No active el interruptor de encendido antes de que se hayan realizado todas las conexiones.*

Montar las torres de los tubos de la unidad Western

Las torres para los tubos de la unidad Western no vienen preinstaladas en el momento de la entrega y deben ser montadas por el usuario.

Paso	Acción
1	Abra la bolsa de plástico que contiene las torres y los tubos.

Paso	Acción
2	Presione cada torre hacia el interior del orificio y gírela en el sentido de las agujas del reloj hasta que encaje en posición con un chasquido. Los tubos deben instalarse de la siguiente manera:

Posición de la torre (visto desde la parte frontal del instrumento)	Tubos
Izquierda	**T buffer** y **T water**
Medio	**P water**, **P block** y **P wash**
Derecha	**P Final wash** y **P Custom**

Nota:

Tenga cuidado de no quitar ninguna de las etiquetas de los tubos al montar las torres.

Acoplar los soportes de los tubos

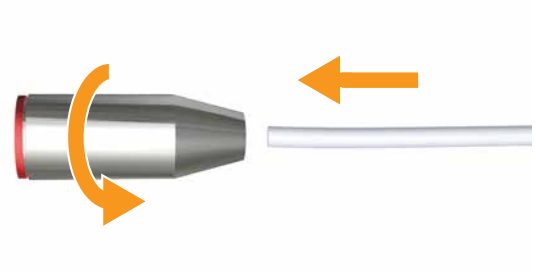
Para compensar las tensiones que se producen al colocar los tubos en las botellas y para evitar que se caigan las botellas cuando disminuye el nivel de líquido, se deben acoplar soportes a todos los tubos.

Nota: *Se deben instalar soportes en todos los tubos antes de acoplar los filtros de entrada.*

Paso	Acción
1	Inserte un tubo en el orificio del soporte de tubo.
2	Continúe insertando el extremo abierto del tubo por la ranura del soporte de tubo. ***Nota:*** *Asegúrese de que las etiquetas de los tubos están todavía pegadas a los tubos. No es necesario que la etiqueta esté dentro del soporte de tubo.*

Instale los filtros de entrada en los tubos

Inserte el tubo en el soporte de filtro que contiene el filtro de entrada y gire el soporte de filtro para que el tubo quede apretado.

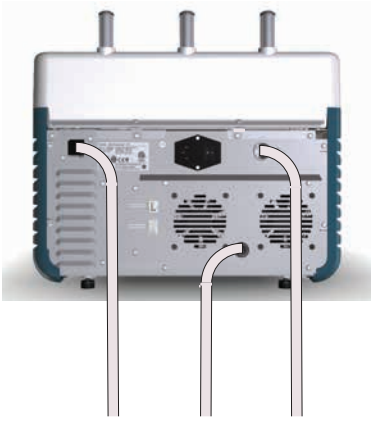


Coloque el tubo de residuos y derrames

PRECAUCIÓN

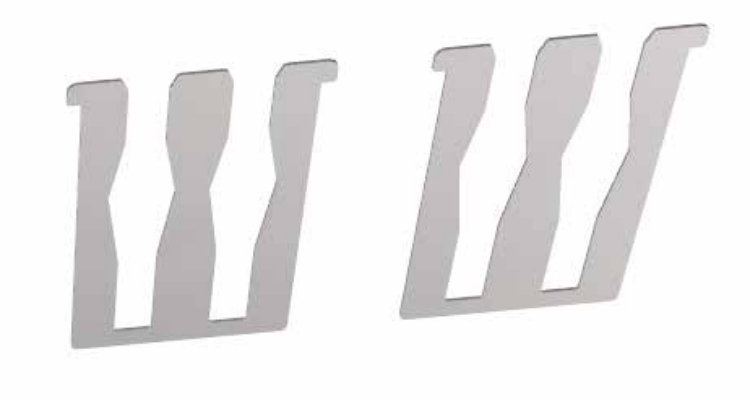
El tubo de residuos y derrames debe apretarse correctamente para evitar el riesgo de que se salga del contenedor de residuos.

Coloque el tubo de residuos y derrames de modo que las salidas estén en una posición más baja que la mesa sobre la cual está colocado el Amersham WB analyzer. Corte el tubo a la longitud apropiada y apriételo para evitar el riesgo de que se salga del contenedor de residuos.

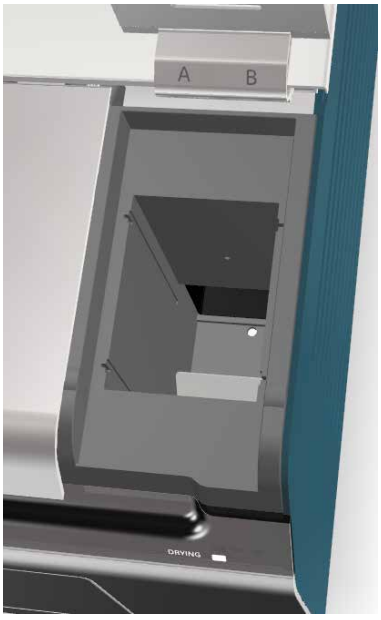


Instale guías para el secador de membrana en el compartimento de secado

Paso	Acción
1	Abra la bolsa de plástico que contiene las dos guías de secador de membrana.

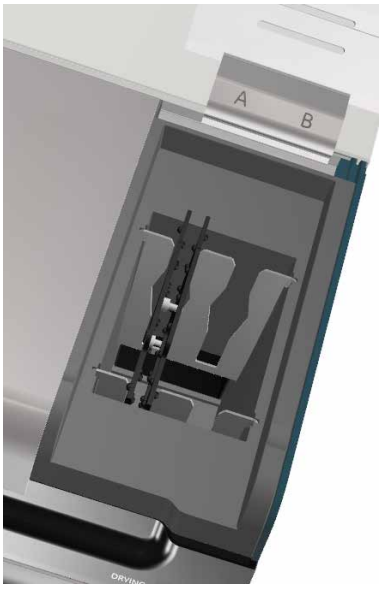


2	Abra la tapa del compartimento de secado.



Paso	Acción
3	Coloque las guías de secador de membrana en las dos ranuras.

4	Almacene los soportes de secado en el compartimiento de secado.



Instalar un lector de indicador de matriz (opcional)

Paso	Acción
1	Conecte el cable USB al lector de indicador de matriz.
2	Conecte el cable USB al ordenador.
3	Programe y verifique la función del lector de indicador de matriz, conforme a las instrucciones que vienen en su documentación para el usuario.

4.3 Instalación del software

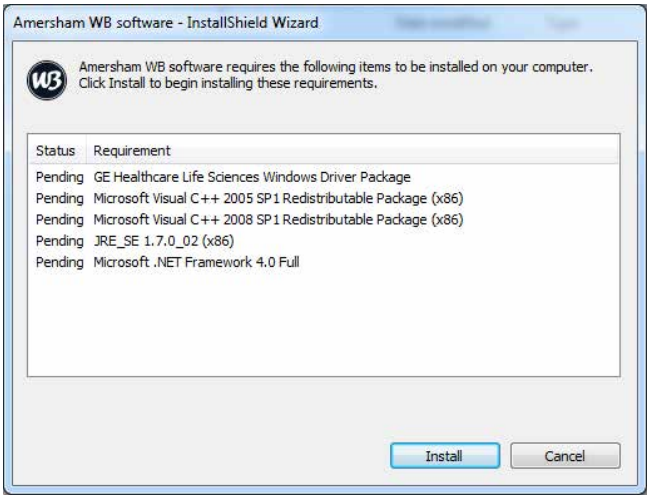
Instalar el Amersham WB software

Para instalar el software en un ordenador con Windows 7 Professional:

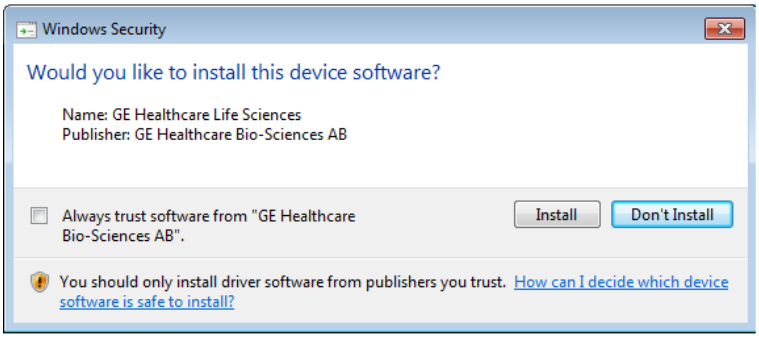
Nota: *Se recomienda instalar cualquier actualización pendiente de Windows antes de instalar el software y seguir las instrucciones que aparecen en pantalla.*

*Después de hacer clic en **Install**, se recomienda finalizar el procedimiento completo de instalación (sin interrupciones).*

Paso	Acción
1	Inserte el DVD del software en el ordenador. Cuando aparezca el primer cuadro de diálogo, haga clic en ***Install*** para instalar los requisitos de software.


Amersham WB software - InstallShield Wizard
Amersham WB software requires the following items to be installed on your computer.
Click Install to begin installing these requirements.
Status
Requirement
Pending GE Healthcare Life Sciences Windows Driver Package
Pending Microsoft Visual C++ 2005 SP1 Redistributable Package (x86)
Pending Microsoft Visual C++ 2008 SP1 Redistributable Package (x86)
Pending JRE_SE 1.7.0_02 (x86)
Pending Microsoft .NET Framework 4.0 Full
Install
Cancel

Paso	Acción
2	Cuando aparezca el cuadro de diálogo ***Windows Security***, haga clic en el botón ***Install***.


Windows Security
Would you like to install this device software?
Name: GE Healthcare Life Sciences
Publisher: GE Healthcare Bio-Sciences AB
Always trust software from "GE Healthcare Bio-Sciences AB".
Install
Don't Install
You should only install driver software from publishers you trust. How can I decide which device software is safe to install?

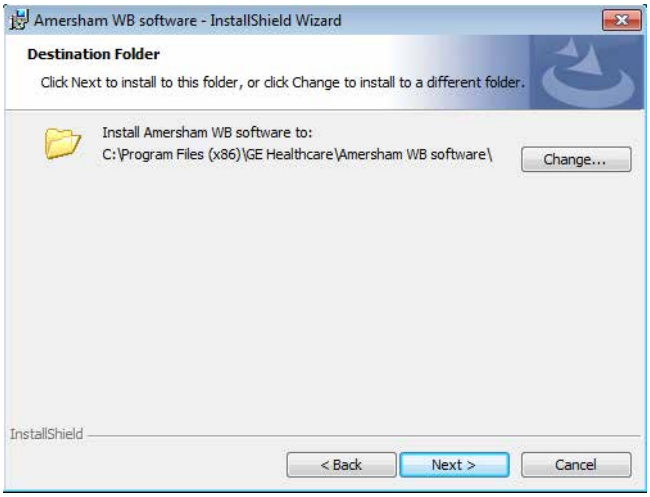
3	Cuando se hayan instalado correctamente todos los requisitos, comience la instalación del software haciendo clic en ***Next***, en el cuadro de diálogo ***Welcome to the InstallShield Wizard for Amersham WB software***.

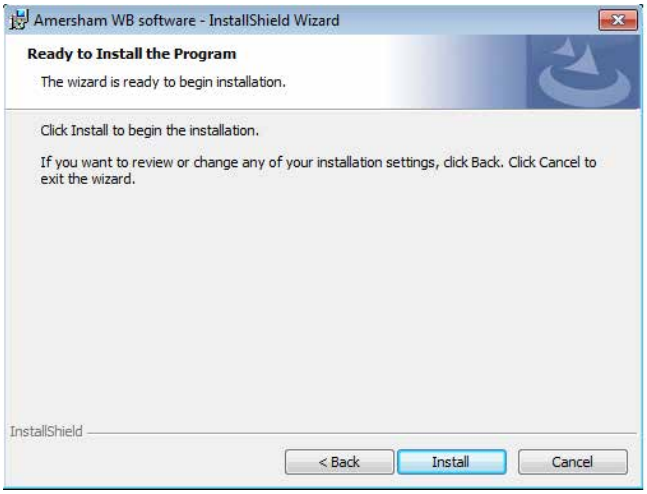
Amersham WB software - InstallShield Wizard
Welcome to the InstallShield Wizard for Amersham WB software
The InstallShield(R) Wizard will install Amersham WB software on your computer. To continue, click Next.
WARNING: This program is protected by copyright law and international treaties.
< Back
Next >
Cancel

Paso	Acción
4	Lea el acuerdo de licencia del software. Cuando haya leído y aceptado el acuerdo de licencia del software, seleccione la opción ***I accept....*** y haga clic en ***Next***.

Amersham WB software - InstallShield Wizard
License Agreement
Please read the following license agreement carefully.
GE Healthcare
STANDARD SOFTWARE END-USER LICENSE AGREEMENT FOR LIFE SCIENCES SOFTWARE PRODUCTS
IMPORTANT - PLEASE READ CAREFULLY
THIS IS THE LICENSE AGREEMENT THAT END-USER IS REQUIRED TO ACCEPT BEFORE INSTALLING AND USING GE HEALTHCARE SOFTWARE. CAREFULLY READ ALL OF THE TERMS AND CONDITIONS OF THIS LICENSE AGREEMENT BEFORE PROCEEDING
I accept the terms in the license agreement
I do not accept the terms in the license agreement
Print
InstallShield
< Back
Next >
Cancel

5	• Para cambiar el directorio predeterminado (no se recomienda), haga clic en ***Change*** y navegue hasta el directorio deseado. • Haga clic en ***Next***


Amersham WB software - InstallShield Wizard
Destination Folder
Click Next to install to this folder, or click Change to install to a different folder.
Install Amersham WB software to:
C:\Program Files (x86)\GE Healthcare\Amersham WB software\
Change...
InstallShield
< Back
Next >
Cancel

Paso	Acción
6	• Para revisar o cambiar la configuración de instalación, haga clic en ***Back***. • Para comenzar la instalación, haga clic en ***Install***. 
7	Haga clic en ***Finish*** para salir del asistente de instalación.

Comprobar la comunicación del instrumento

Paso	Acción
1	Encienda el ordenador, la unidad Elpho & scan y la unidad Western.
2	Inicie el Amersham WB software. *Resultado:* El software mostrará la comunicación establecida con las unidades del instrumento. Si no se establece comunicación: • Es posible que el cable o las conexiones de alimentación sean incorrectos: Compruebe toda la instalación del hardware. • La instalación del controlador USB puede ser incorrecta: Cambie el puerto USB del ordenador.

5 Realizar un experimento

Acerca de este capítulo

En este capítulo se ofrece una descripción general de los dos tipos principales de experimentos que pueden realizarse con Amersham WB system. También se describe el flujo de trabajo del tipo de experimento ***Western with total protein normalization***.

Precauciones

PRECAUCIÓN

Utilice siempre guantes, ropa de protección y gafas adecuadas durante el funcionamiento y mantenimiento del Amersham WB analyzer .

Contenido de este capítulo

Este capítulo contiene las siguientes secciones:

Sección	Consulte la página
5.1 Información general	118
5.2 Inicie el Amersham WB analyzer	122
5.3 Configurar un experimento en el software	124
5.4 Realizar el premarcaje de muestras	128
5.5 Preparación del Amersham WB molecular weight markers	132
5.6 Realizar electroforesis de proteínas	134
5.7 Realizar transferencia	146
5.8 Realizar sondeo y secado	171

Sección	Consulte la página
5.9 Analizar membrana y ver los resultados	187

5.1 Información general

Introducción

En esta sección se ofrece una descripción general de los dos tipos principales de experimentos que pueden realizarse:

- experimentos de electroforesis
- Experimentos Western (incluye electroforesis de proteínas)

En esta sección se describe el flujo de trabajo de un experimento típico (se describe en las secciones subsiguientes), con ilustraciones del tipo de experimento ***Western with total protein normalization***.

Experimentos de electroforesis

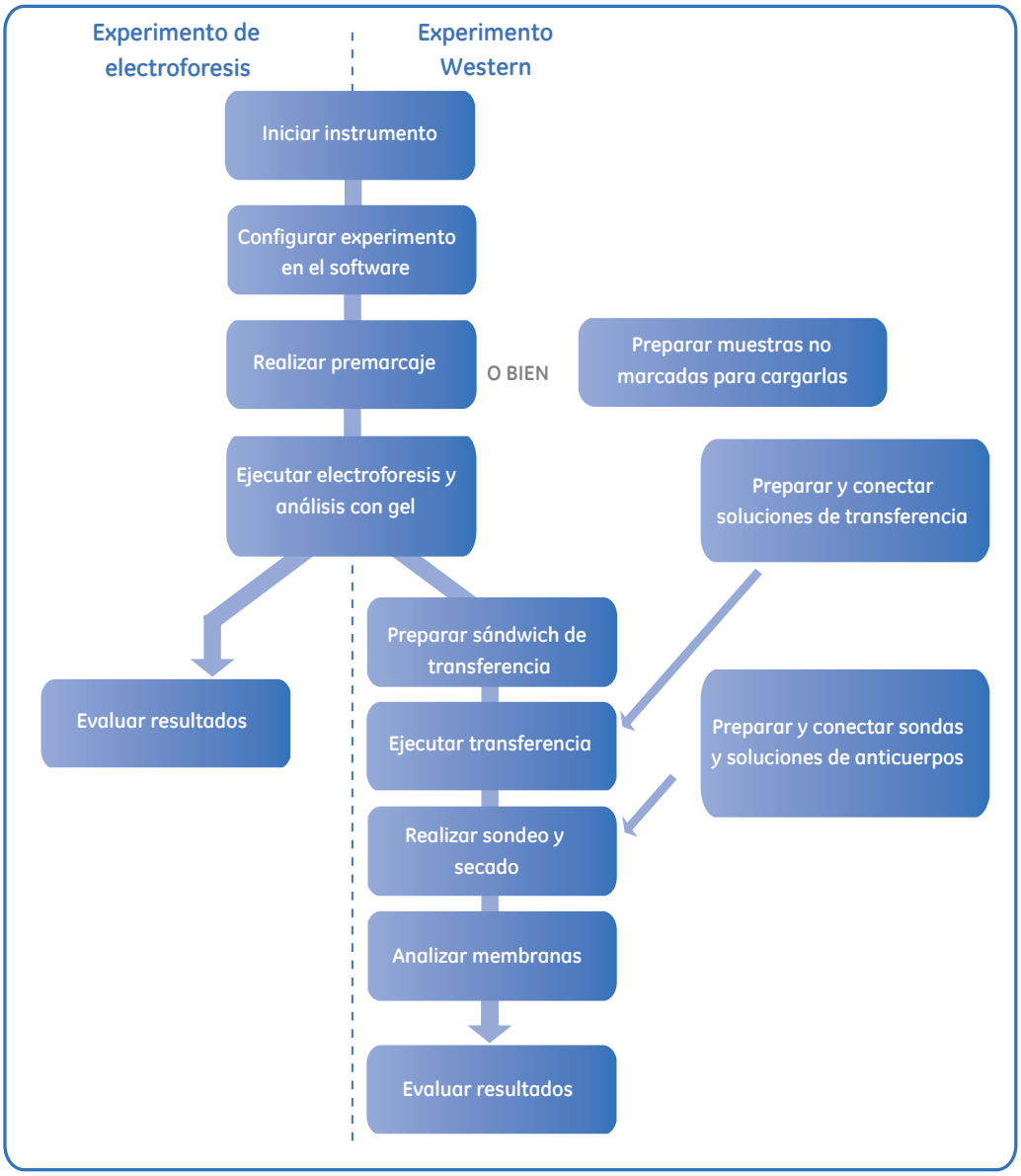
En los experimentos de electroforesis, las muestras son premarcadas con reactivo de tinte Cy5 antes de la electroforesis. Esto permite la detección directa de proteínas premarcadas en la muestra, eliminando la necesidad de colorear posteriormente el gel. En el paso de evaluación después del análisis del gel, se realiza un análisis automático de las bandas de proteínas y los resultados se presentan en el software.

Experimentos Western

En experimentos Western, las proteínas no marcadas o proteínas premarcadas con Cy5 son separadas en el gel durante la electroforesis y luego transferidas desde el gel a una membrana. La membrana es sondeada con anticuerpos primarios y con anticuerpos secundarios conjugados con tinte Cy3 o Cy5 para la detección de las proteínas objetivo. Para la detección total de proteínas se marca previamente la muestra con Cy5. Después del sondeo, se seca la membrana y luego se analiza. En la fase de evaluación, se realiza un análisis automático de las bandas de proteínas y los resultados se presentan en el software.

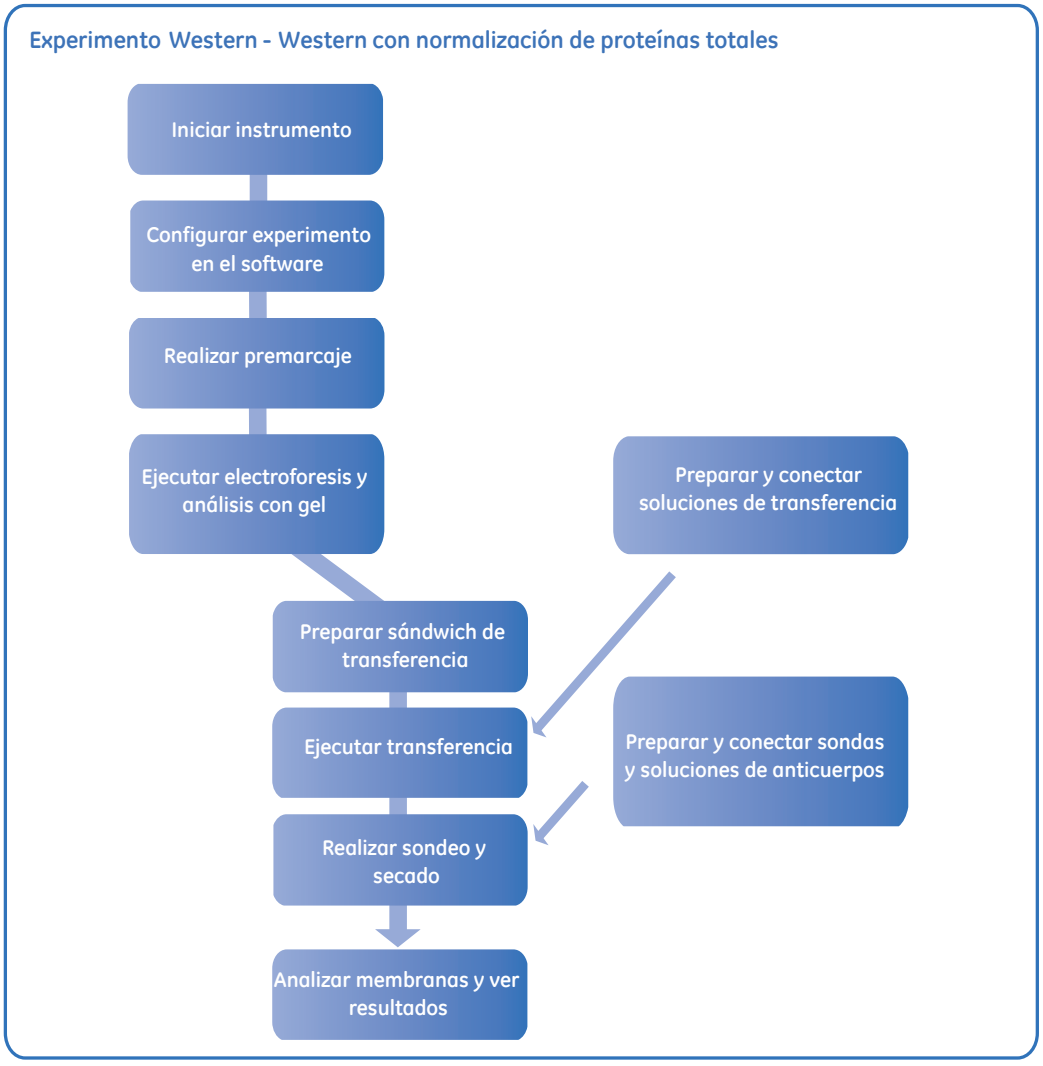
Descripción general del flujo de trabajo

La ilustración siguiente muestra los pasos principales en la electroforesis y experimentos Western.



Flujo de trabajo – Western con normalización de proteínas totales

La ilustración siguiente muestra los pasos principales del tipo de experimento ***Western with total protein normalization***. Este flujo de trabajo se utiliza para ejemplificar la realización de un experimento típico y se describe con más detalle en las secciones subsiguientes. Para otros tipos de experimentos, consulte el Amersham WB system User Manual.


Experimento Western - Western con normalización de proteínas totales
Iniciar instrumento
Configurar experimento en el software
Realizar premarcaje
Ejecutar electroforesis y análisis con gel
Preparar y conectar soluciones de transferencia
Preparar sándwich de transferencia
Ejecutar transferencia
Preparar y conectar sondas y soluciones de anticuerpos
Realizar sondeo y secado
Analizar membranas y ver resultados

La tabla siguiente enumera las secciones en las que se describen los pasos.

Paso	Consulte...
Iniciar instrumento	*Sección 5.2 Inicie el Amersham WB analyzer, en la página 122*
Configurar un experimento en el software	*Sección 5.3 Configurar un experimento en el software, en la página 124*
Realizar premarcaje	*Sección 5.4 Realizar el premarcaje de muestras, en la página 128*
Realizar electroforesis y análisis	*Sección 5.6 Realizar electroforesis de proteínas, en la página 134*
Preparar y conectar soluciones de transferencia	*Sección 5.7.1 Preparar y conectar soluciones de transferencia, en la página 147*
• Preparar el sándwich de transferencia • Ejecutar transferencia	*Sección 5.7 Realizar transferencia, en la página 146*
Preparar y conectar sondas y soluciones de anticuerpos	*Sección 5.8.1 Preparar y conectar sondas y soluciones de anticuerpos, en la página 172*
Realizar sondeo y secado	*Sección 5.8 Realizar sondeo y secado, en la página 171*
Analizar membrana y ver los resultados	*Sección 5.9 Analizar membrana y ver los resultados, en la página 187*

Encontrar más información

Para obtener información complementaria e información detallada sobre cómo planificar los experimentos, consulte el *Amersham WB system User Manual*. Puede acceder a él desde el software, seleccionando ***Help:View user manual*** en la barra de menús.

Para tener información detallada sobre el software, consulte la *Amersham WB software help* integrada en el software (disponible en el panel derecho del software).

5.2 Inicie el Amersham WB analyzer

Introducción

En esta sección se describe cómo poner en marcha las unidades Amersham WB analyzer. Es posible configurar un experimento con anticipación en un ordenador de oficina que no esté conectado al instrumento.

Nota: *Las dos unidades del instrumento deben siempre estar encendidas durante un ciclo de proceso.*

Inicie la unidad Amersham WB elpho & scan

Paso	Acción
1	En el panel posterior de la unidad Elpho & scan, pulse el interruptor de encendido y apagado para que quede en la posición **I** (encendido). *Resultado:* se enciende la unidad Elpho & scan.
2	Durante el encendido, el panel de indicadores mostrará lo siguiente: Cuando la unidad el instrumento está lista para usarse, se muestra un cuadro blanco.

Inicie la unidad Amersham WB western

Paso	Acción
1	En el panel posterior de la unidad Western, pulse el interruptor de encendido y apagado para que quede en la posición **I** (encendido). ***Nota:*** *La unidad Elpho & scan debe estar encendida antes de que se pueda operar la unidad Western.* *Resultado:* se enciende la unidad Western.
2	Durante el encendido, el panel de indicadores mostrará lo siguiente: Cuando los compartimentos de la unidad Western estén listos para usarse, se mostrará un cuadro blanco por cada uno de los tres compartimentos (transferencia, sondeo y secado).

5.3 Configurar un experimento en el software

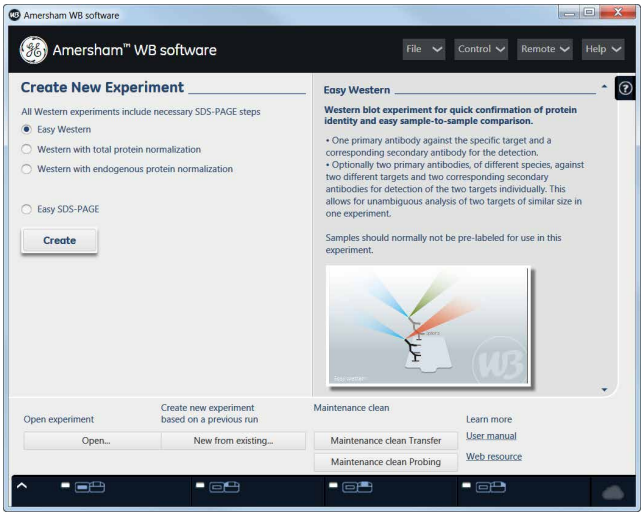
Introducción

En esta sección se describe cómo iniciar el Amersham WB software y cómo configurar un experimento Amersham WB en el software. Para obtener información detallada, consulte el Amersham WB software Help en el panel derecho del software.

Iniciar el software

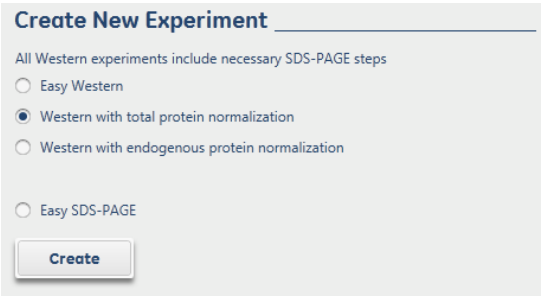
Paso	Acción
1	Encienda el ordenador e inicie sesión en Microsoft Windows.
2	Haga doble clic en el icono Amersham WB software en el escritorio.

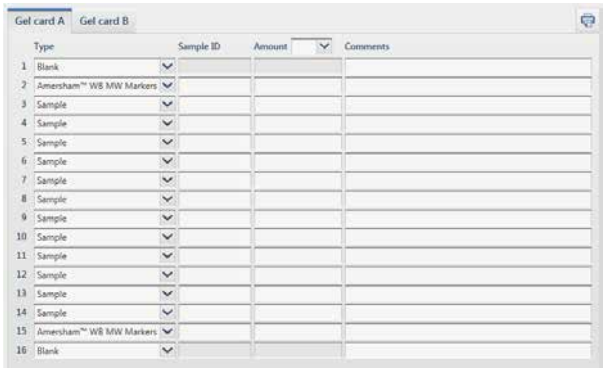
Resultado: se muestra la pantalla de inicio del software.

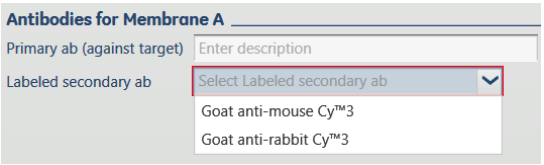

Amersham WB software
Amersham™ WB software
File
Control
Remote
Help
Create New Experiment
All Western experiments include necessary SDS-PAGE steps
Easy Western
Western with total protein normalization
Western with endogenous protein normalization
Easy SDS-PAGE
Create
Easy Western
Western blot experiment for quick confirmation of protein identity and easy sample-to-sample comparison.
• One primary antibody against the specific target and a corresponding secondary antibody for the detection.
• Optionally two primary antibodies, of different species, against two different targets and two corresponding secondary antibodies for detection of the two targets individually. This allows for unambiguous analysis of two targets of similar size in one experiment.
Samples should normally not be pre-labeled for use in this experiment.
Open experiment
Open...
Create new experiment based on a previous run
New from existing...
Maintenance clean
Maintenance clean Transfer
Maintenance clean Probing
Learn more
User manual
Web resource

Consejo: *Para mostrar el panel de ayuda con las instrucciones para la pantalla activa, haga clic en el botón del panel de ayuda* *o pulse* ***F1****.*
Para abrir el manual del usuario, seleccione ***Help:View user manual*** *o pulse* ***Ctrl + F1****.*

Crear y configurar un experimento

Paso	Ilustración de pasos	Acciones del operador
1		Seleccione el tipo de experimento y haga clic en ***Create***. En este ejemplo, ***Western with total protein normalization***. *Resultado:* se abre la pantalla principal del software que muestra la fase del flujo de trabajo ***EXPERIMENT & SAMPLES***. Para obtener información general sobre la pantalla principal, consulte *Sección 3.9 Descripción general del software, en la página 89*.
2		• Elija el número de tarjetas de gel para el experimento. • Seleccione el tipo de tarjeta de gel. Para obtener información sobre los intervalos de separación de la proteína, consulte *Resolución de la separación de proteínas, en la página 71*. *Resultado:se activan la tabla* ***Gel card A*** y las opciones del área ***Antibodies for Membrane A***.

Paso	Ilustración de pasos	Acciones del operador
3		Introduzca información y comentarios sobre la muestra en la tabla ***Gel card A*** (opcional). Consulte *Sección 3.6.1 Amersham WB molecular weight markers, en la página 68* para obtener información sobre los marcadores de peso molecular y sobre el cálculo automático de la curva de calibración del peso molecular. ***Consejo:*** *La tabla de muestras no está bloqueada durante la electroforesis. Por consiguiente, es posible rellenar la tabla durante la fase de electroforesis después de haber comenzado el ciclo, si necesita comenzar un ciclo rápidamente.*

Paso	Ilustración de pasos	Acciones del operador
4		Introducir el nombre/descripción de ***Primary ab (against target)*** (opcional) y seleccione la ***Labeled secondary ab*** apropiada en la pestaña ***Gel card A***. En este protocolo se ha utilizado Cy5 para el premarcaje. Elija un anticuerpo secundario conjugado con Cy3. Repita los pasos 3-4 para la tarjeta de gel B, si está incluida en el experimento. ***Consejo:*** *Puede imprimir el protocolo y usarlo en conexión con la preparación y premarcaje de muestras. Para imprimir el protocolo, haga clic en el icono* *que se encuentra a la derecha de las pestañas de tarjeta de gel, o pulse* ***Ctrl + P****.*

5.4 Realizar el premarcaje de muestras

Introducción

El premarcaje de muestras es necesario para la detección cuando se realizan experimentos de electroforesis. También se requiere en experimentos Western cuando se trata de detectar el total de proteínas en una membrana.

En esta sección se describen:

- requisitos previos para el premarcaje
- materiales necesarios para el premarcaje
- preparaciones antes de comenzar el premarcaje
- marcaje de muestras (protocolo de premarcaje)

En este ejemplo, se realiza el premarcaje de muestras de lisis de célula/tejido que se van a usar en un experimento ***Western with total protein normalization***. Para obtener más información acerca del premarcaje, consulte *Amersham WB system User Manual*.

Precauciones

ADVERTENCIA

Cuando trabaje en el premarcaje de muestras de proteínas:

- Utilice siempre ropa de protección, guantes y gafas adecuadas.
- Lea la Ficha de datos de seguridad (SDS/MSDS) antes de realizar el premarcaje de muestras.

PRECAUCIÓN

Al realizarse el premarcaje de las proteínas de las muestras puede surgir un fuerte olor procedente de los vestigios de sulfato de dimetilo (DMS) y de dimetil sulfóxido (DMSO). Puede ser necesaria ventilación local para evacuar los gases. Para el funcionamiento seguro, siga las normativas e instrucciones locales.

Nota: *Para obtener una eficacia de marcaje comparable, los parámetros importantes como pH, volumen de la reacción, temperatura y sales de solución amortiguadora deben ser constantes.*

La eficacia del marcaje también variará en función de las proteínas.

Requisitos previos de premarcaje de muestras mediante el protocolo de premarcaje Western

Soluciones amortiguadoras para lisis compatibles

Las soluciones amortiguadoras comunes para lisis, con base de tris y pH de 7 a 9 y con diversos detergentes y sales, son compatibles con el premarcaje de muestras de célula/tejido, por ejemplo:

- Solución amortiguadora de extracción de proteínas de mamíferos, de GE
- Solución amortiguadora RIPA

pH de la muestra

El pH de la muestra debe ser de entre 7 y 9.

Un óptimo pH no es crucial para los lisados de células y extractos de tejidos, ya que una alta sensibilidad de la señal de la proteína no es necesaria. La señal de las proteínas totales en un experimento de Western con normalización de proteínas totales debe ser proporcional a la cantidad de proteínas (que no depende de una alta sensibilidad).

Soluciones y materiales necesarios

Se necesitan las siguientes soluciones y materiales para el premarcaje de proteínas:

- Consumibles para premarcaje: reactivo Cy5, solución amortiguadora de marcaje, solución amortiguadora de carga
- 1 M de solución estándar de ditiotreitol (DTT y agua ultra pura) si se va a realizar una reducción de la SDS-PAGE
- Agua ultra pura para diluir el reactivo de tinte Cy5
- Solución amortiguadora para lisis original, para ajustar el volumen de la reacción (solo experimentos de Western)
- tubos microcentrifugadores de 0,5 ml
- Bloque calefactor
- Vórtex
- Centrífuga

Preparaciones antes de comenzar el premarcaje

Paso	Acción
1	• Saque del congelador uno de cada de los siguientes frascos (suficiente para procesar dos tarjetas de gel): - 1 frasco de Amersham WB Cy5 - 1 frasco de Amersham WB loading buffer • Descongele completamente los componentes de premarcaje. • Equilibre el frasco de Cy5 a la temperatura ambiente antes de abrirlo para evitar la condensación de humedad.
2	Centrifugue brevemente el líquido con reactivo de tinte Cy5 con la centrífuga.
3	Establezca la temperatura del bloque calefactor en 95° C.
4	Para reducir la SDS-PAGE (electroforesis en gel de poliacrilamida con dodecilsulfato sódico), agregue agente reductor a la solución amortiguadora de carga: • Agregue 29 µl 1 M DTT de solución estándar a 0,7 ml (un frasco) de solución amortiguadora de carga y hágalo girar para mezclarlo.

Realizar premarcaje de muestras (protocolo de premarcaje Western)

Consejo: *El protocolo siguiente se puede aumentar paulatinamente.*

Paso	Acción
1	Coloque la reacción de premarcaje en un tubo microcentrifugador de 0,5 ml: • Agregue 2-19 µl de lisado de células o muestra de extracto de tejido (máximo 40 µg total de proteína) y llene hasta un volumen de 19 µl usando solución amortiguadora para lisis de la muestra original. • Agregue 1 µl de reactivo de tinte Cy5 diluido en agua ultra pura en una proporción de 1:10. ***Nota:*** *El tinte diluido debe ser una preparación nueva y deberá usarse en un plazo de 30 minutos. No puede congelarse y reutilizarse más tarde.* • Gire la solución hasta que se mezcle completamente.
2	Incube la mezcla a temperatura ambiente durante 30 minutos. ***Nota:*** *Asegúrese de que el tiempo de marcaje y el volumen sean iguales para todas las muestras.* *En el caso de muestras sensibles a la temperatura, incúbelas en hielo durante 30 minutos.*
3	Agregue 20 µl de solución amortiguadora de carga.
4	Caliente las muestras a 95° C durante 3 minutos.
5	Centrifugue las muestras. El volumen total de las muestras es 40 µl por reacción (el volumen de carga recomendado es de 20 µl). Proceda con la carga de muestras, como se describe en *Preparaciones antes de comenzar la electroforesis, en la página 135*. Si el análisis de electroforesis se va a realizar en una fase posterior, guarde las muestras premarcadas conservándolas a una temperatura de -20°C.

5.5 Preparación del Amersham WB molecular weight markers

Introducción

Saque del congelador un envase de Amersham WB molecular weight markers (marcadores de peso molecular), suficiente para procesar dos tarjetas de gel y descongélelo completamente.

Experimentos Western

En los experimentos de Western, los Amersham WB molecular weight markers deben diluirse en una proporción de 1:20 en la solución amortiguadora de carga antes de efectuar la carga en la tarjeta de gel. Antes de usarse, la solución amortiguadora de carga suministrada debe diluirse con agua ultra pura y contener el DTT agregado.

Paso	Acción
1	Agregue 29 µl de solución estándar de 1 M DTT a los 0,7 ml (un envase) de solución amortiguadora de carga. Mezcle con un agitador vorticial.
2	Diluya el DTT que contiene la solución amortiguadora de carga con un volumen igual de agua ultra pura. Mezcle con un agitador vorticial.
3	Diluya los marcadores de peso molecular en una proporción de 1:20 con la solución amortiguadora de carga preparada.

Nota: *Los marcadores de peso molecular pueden diluirse posteriormente en la solución amortiguadora de carga preparada para igualar las muestras con señales débiles. Sin embargo, después es necesario seleccionar la opción.* ***Stop electrophoresis on time****.*

Experimentos de electroforesis

En experimentos de electroforesis, generalmente no hay necesidad de diluir los Amersham WB molecular weight markers. Si es necesario, diluya los marcadores de peso molecular con la solución amortiguadora de carga que contiene DTT (diluida con un volumen igual de agua ultra pura).

Reproducciones

Se recomienda incluir dos filas de marcadores durante el proceso y así obtener los mejores resultados posibles en la calibración automática del peso molecular de proteínas de muestra, durante el paso de evaluación.

5.6 Realizar electroforesis de proteínas

Introducción

En esta sección se describe cómo realizar la electroforesis de proteínas, que incluye:

- preparaciones antes de comenzar la electroforesis
- realizar limpieza del pocillo de muestras
- comenzar y monitorizar la electroforesis y el análisis de la tarjeta de gel
- procedimientos después de la electroforesis y del análisis de la tarjeta de gel

En esta sección

Esta sección contiene las siguientes subsecciones:

Sección	Consulte la página
5.6.1 Antes de la electroforesis	135
5.6.2 Realizar la electroforesis	142
5.6.3 Procedimientos después de la electroforesis y del análisis de la tarjeta de gel	144

5.6.1 Antes de la electroforesis

Introducción

En esta sección se describe la forma de cargar las tiras de solución amortiguadora, la tarjeta de gel, los Amersham WB molecular weight markers preparados y las muestras para ejecutar la electroforesis.

Preparaciones antes de comenzar la electroforesis

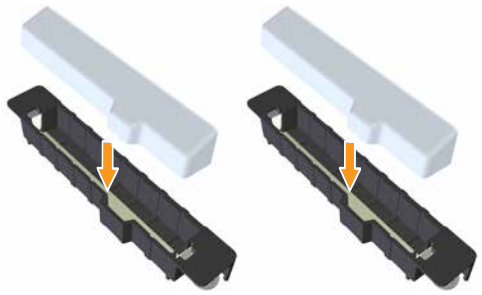
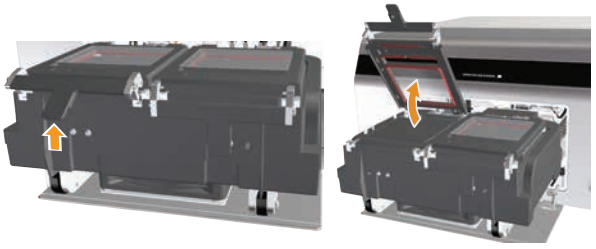
ADVERTENCIA

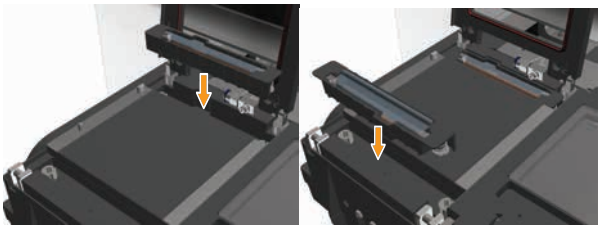
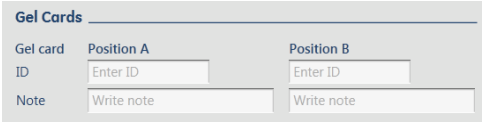
Explosión de cristal. No utilice el sistema si el cristal de la tapa de sellado de la unidad Elpho & scan está rayado o roto. Apague el instrumento, desconecte el cable de alimentación y póngase en contacto con un ingeniero de mantenimiento autorizado.

PRECAUCIÓN

Piezas en movimiento. Tenga cuidado al abrir o cerrar el cargador para evitar que los dedos o la ropa queden atrapados cuando se mueve el cargador.

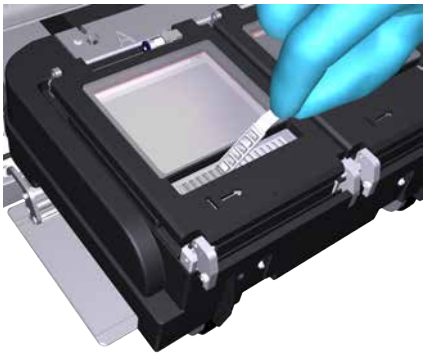
Nunca coloque botellas o frascos en frente de la unidad Elpho & scan. Pueden caerse cuando se abre el cargador.

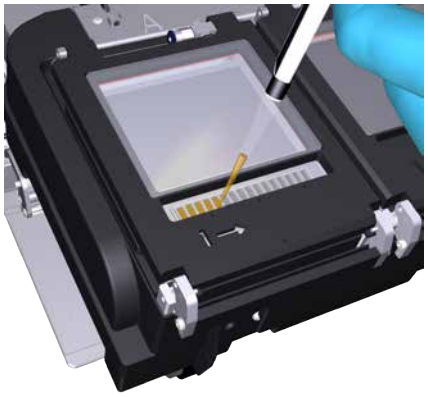
Paso	Ilustración de pasos	Acciones del operador
1		Coloque las tiras de solución amortiguadora en sus soportes sacando dos tiras de solución amortiguadora de sus envases y colocándolas directamente en los soportes de tiras de solución amortiguadora. ***Nota:*** *Para evitar la contaminación de las tiras de solución amortiguadora, no las toque o asegúrese de llevar guantes limpios.*
2		Unidad Pulse el botón de expulsión en la unidad Elpho & scan. *Resultado:* se expulsa el cargador.
3		Abra la tapa de sellado utilizando el pestillo.

Paso	Ilustración de pasos	Acciones del operador
4		Coloque los soportes de tiras de solución amortiguadora en las cavidades de la placa de la tarjeta en el cargador.
5		• Saque la tarjeta de gel de su envase (con la parte frontal hacia arriba). • *Opcional:* Coloque el cursor en el campo ***ID*** del software, en el paso de flujo de trabajo ***ELECTROPHORESIS & GEL SCANNING*** y analice el indicador de matriz de la tarjeta de gel (indicada con un círculo naranja) usando el lector del indicador de matriz. De forma alternativa, escriba el ID de cinco dígitos (por ejemplo, 00123).

Paso	Ilustración de pasos	Acciones del operador
6		• Gire la tarjeta de gel de modo que el reverso quede hacia arriba (las asas azules sin etiquetas quedan hacia arriba). • Agarre el extremo de la película protectora en la parte inferior de la tarjeta de gel y, con cuidado, retírela. • Agarre el extremo de la película protectora en la parte superior de la tarjeta de gel y, con cuidado, retírela. Al retirar las películas protectoras, se establece contacto entre el gel y la solución amortiguadora cuando se coloca la tarjeta de gel sobre la placa de la tarjeta. Tenga cuidado de no tocar las superficies expuestas del gel.

Paso	Ilustración de pasos	Acciones del operador
7		• Gire el gel de modo que su lado frontal quede hacia arriba (es decir, la tapa del pocillo de muestras mirando hacia arriba). ***Nota:*** *Asegúrese de que la placa de la tarjeta esté completamente seca.* • Coloque la tarjeta de gel sobre la placa de la tarjeta alineando los orificios del armazón con los pasadores guía que están marcados con círculos de color naranja. ***Nota:*** *Tenga cuidado de no rayar la placa de la tarjeta con ningún objeto afilado.*

Paso	Ilustración de pasos	Acciones del operador
8		• Cierre la tapa de sellado. • Agarre el extremo de la tapa del pocillo de muestras y retírela con cuidado. ***Consejo:*** *Cambie el agarre mientras retira la tapa del pocillo de muestras para poder agarrarla tan cerca del pocillo como sea posible.* ***Nota:*** *Si se rompe la tapa del pocillo de muestras: Deje que el gel continúe en el cargador con la tapa de sellado cerrada. Utilice pinzas o algo similar para retirar el resto de la tapa del pocillo.*

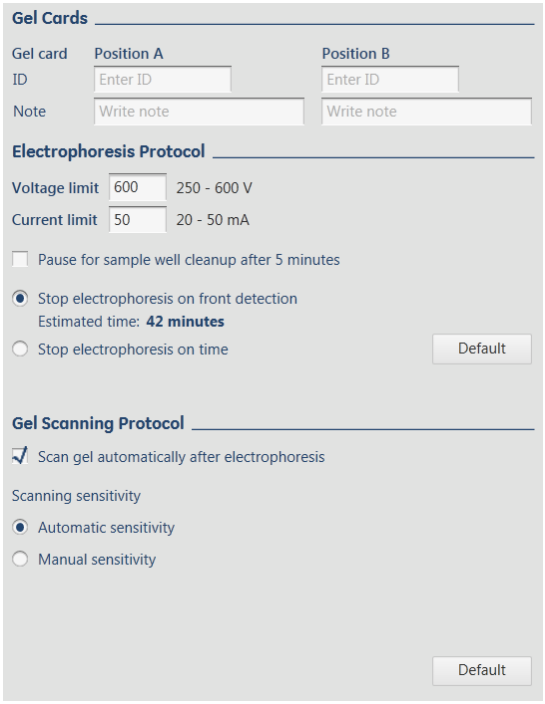
Paso	Ilustración de pasos	Acciones del operador
9		Cargue las muestras, la solución amortiguadora de carga y/o el marcadores de peso molecular en los pocillos (normalmente 20 µl/pocillo) como se configuró en la pantalla ***EXPERIMENT & SAMPLES*** del software. ***Nota:*** *Nunca abra la tapa después de que se hayan cargado las muestras.* ***Nota:*** *Todos los pocillos deben cargarse con una muestra, solución amortiguadora de carga (diluida con un volumen de agua ultra pura) o marcadores de peso molecular. Se recomienda tener solución amortiguadora de carga en los pocillos 1 y 16, y marcadores de peso molecular en los pocillos 2 y 15.*
10		Cuando se hayan cargado todas las muestras, pulse el botón de expulsión. *Resultado:* el cargador se inserta en la unidad Elpho & scan.

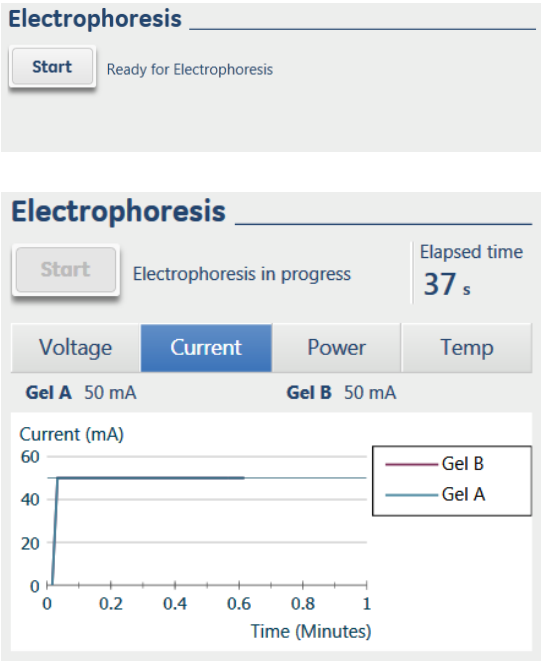
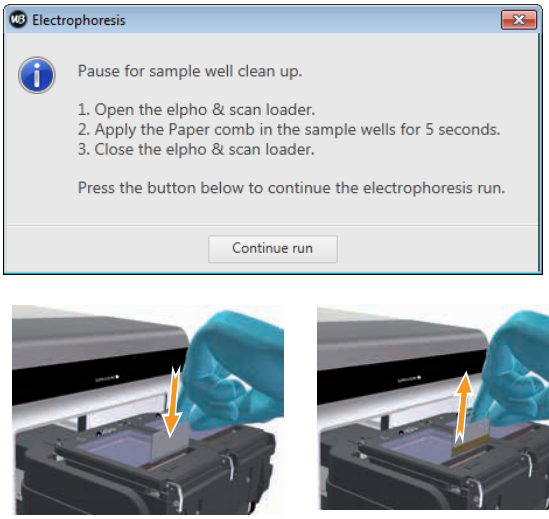
5.6.2 Realizar la electroforesis

Introducción

En esta sección se describe cómo comenzar y monitorizar la electroforesis.

Comenzar y monitorizar la electroforesis y el análisis de gel

Paso	Ilustración de pasos	Acciones del operador
1	 	• En el paso del flujo de trabajo ***ELECTROPHORESIS & GEL SCANNING*** , use la configuración predeterminada para electroforesis y análisis de tarjetas de gel, como se muestra en la captura de pantalla. • *Opcional:* Seleccione ***Pause for sample well cleanup after 5 minutes*** si se va a usar el peine de papel. Para obtener más información, consulte *Sección 3.6 Accesorios y consumibles para electroforesis, en la página 67*. El tiempo para la pausa se calcula a partir de la configuración del voltaje y del amperaje. El valor predeterminado es 5 minutos. • *Opcional:* Introduzca una nota acerca de las tarjetas de gel en el campo ***Note***.

Paso	Ilustración de pasos	Acciones del operador
2		Haga clic en ***Start***, en el área ***Electrophoresis*** . *Resultado:* comienza el ciclo de electroforesis. El progreso del ciclo aparece gráficamente en las curvas que muestran la corriente, el voltaje, el efecto o la temperatura. También se muestra el tiempo de ciclo transcurrido. ***Consejo:*** *Durante la electroforesis, hay tiempo para preparar soluciones amortiguadoras y otras soluciones para las fases Western. Para obtener más información, consulte Sección 5.7.1 Preparar y conectar soluciones de transferencia, en la página 147 y Sección 5.8.1 Preparar y conectar sondas y soluciones de anticuerpos, en la página 172.*
3	 	Si se ha seleccionado ***Pause for sample well cleanup after 5 minutes***, siga las instrucciones que se muestran a continuación. 1 Abra el cargador. 2 Coloque el peine en los pocillos de muestras y manténgalo ahí durante 5 segundos. 3 Cierre el cargador y continúe el ciclo.

5.6.3 Procedimientos después de la electroforesis y del análisis de la tarjeta de gel

Introducción

En esta sección se describe cómo retirar la tarjeta de gel y limpiar la unidad Elpho & scan después de la electroforesis.

Retire las tarjetas de gel

ADVERTENCIA

Después de la electroforesis, o después de la transferencia (cuando se ha abierto el sándwich de transferencia y se ha colocado la tarjeta PVDF en el compartimento de sondeo), elimine el gel de forma segura. Lea la ficha de datos de seguridad (SDS/MSDS) de la tarjeta de gel para ver las instrucciones de seguridad con respecto al gel y su eliminación.

Nota: *El ciclo de transferencia debe iniciarse en un plazo de una hora desde la finalización de la electroforesis.*

Paso	Acción
1	Cuando la electroforesis esté lista y la luz esté encendida en el panel del instrumento, pulse el botón de expulsión en la unidad Elpho & scan. *Resultado:* se expulsa el cargador.
2	Abra la tapa de sellado utilizando el pestillo.
3	Retire la tarjeta de gel y colóquela boca abajo sobre la mesa.
4	Continúe con *Limpie la unidad Elpho & scan, en la página 145*. ***Nota:*** *Se recomienda limpiar la unidad Elpho & scan después de cada ciclo de proceso. Sin embargo, si no hay tiempo suficiente, proceda con la transferencia y limpie la unidad en una fase posterior del experimento.*

Limpie la unidad Elpho & scan

Paso	Acción
1	Retire del cargador los soportes de tiras de solución amortiguadora y deseche la solución amortiguadora.
2	Pase un paño que no deje pelusa, mojado con un 50 % de etanol si es necesario, para limpiar el líquido de la tarjeta de gel.
3	Con un paño que no deje pelusa limpie la suciedad o líquido del vidrio protector, mojado con un 50 % de etanol si es necesario. ***Nota:*** *Es importante mantener el vidrio protector limpio con el fin de obtener un buen resultado al analizar las tarjetas de gel y las tarjetas PVDF.*
4	Cierre la tapa de sellado y pulse el botón de expulsión en la unidad Elpho & scan. *Resultado:* se inserta el cargador.
5	Limpie los soportes de las tiras de solución amortiguadora con agua corriente para eliminar las sales y la solución amortiguadora. Deje los soportes de tiras de solución amortiguadora boca abajo para que se sequen al aire.

Continuar con la transferencia

Realice uno de los siguientes pasos:

- Si se han preparado y conectado soluciones de transferencia a la unidad Western, proceda con las instrucciones en *Sección 5.7.2 Preparar el sándwich de transferencia, en la página 149*.

  de lo contrario

- Continúe con las instrucciones en *Sección 5.7.1 Preparar y conectar soluciones de transferencia, en la página 147*.

5.7 Realizar transferencia

Introducción

En esta sección se describe cómo preparar el sándwich de transferencia, cómo comenzar y monitorizar el ciclo de transferencia y los procedimientos que se van a realizar después del ciclo de transferencia.

En esta sección

Esta sección contiene las siguientes subsecciones:

Sección	Consulte la página
5.7.1 Preparar y conectar soluciones de transferencia	147
5.7.2 Preparar el sándwich de transferencia	149
5.7.3 Ejecutar transferencia	164
5.7.4 Procedimientos después de la transferencia	168

5.7.1 Preparar y conectar soluciones de transferencia

Introducción

En esta sección se describe cómo preparar y conectar las soluciones amortiguadoras y otras soluciones para la transferencia.

Las soluciones para la transferencia pueden prepararse durante el ciclo de electroforesis y deben conectarse antes de comenzar la transferencia.

Recetas de soluciones de transferencia

ADVERTENCIA

Si se va a utilizar metanol u otros productos químicos que necesitan ventilación, coloque el Amersham WB analyzer en una sala con ventilación para escape de humos.

PRECAUCIÓN

Peligro de incendio. No utilice soluciones amortiguadoras de transferencia que contengan más de un 40 % de etanol o más de un 40 % de metanol. Se recomienda utilizar solamente un 20 % de etanol en las soluciones amortiguadoras de transferencia.

Solución	Receta	Cantidad/ciclo
Solución amortiguadora de transferencia	25 mM Tris, 192 mM glicina, 20% etanol pH 8,3 Es posible utilizar metanol en vez de etanol en la solución amortiguadora de transferencia.. ***Nota:*** *Algunos etanoles tiene propiedades autofluorescentes que darán como resultado un fondo de membrana muy brillante. Asegúrese de que el etanol que se usa durante la transferencia no sea autofluorescente.*	1.000 ml
Agua ultra pura (se usa para limpieza)	Agua ultra pura	1.000 ml

Conecte el tubo a la solución amortiguadora de transferencia y al agua ultra pura del soporte de botellas

PRECAUCIÓN

Para evitar la salpicadura de líquidos peligrosos, utilice filtros de entrada robustos conectados a los tubos de las botellas.

Consulte *Sección 3.8 Otros accesorios, en la página 87* para ver las descripciones de los filtros de entrada y de los soportes de los tubos. Consulte *Acoplar los soportes de los tubos, en la página 106* para obtener información sobre la forma de instalar los accesorios.

Antes de comenzar la transferencia, conecte el tubo a la solución amortiguadora de transferencia y al agua ultra pura (que se usa para limpiar el depósito de transferencia), de la forma siguiente:

Paso	Acción
1	Desde la torre de tubo de la izquierda, coloque el tubo marcado **T Buffer** en una botella de 1000 ml de solución amortiguadora de transferencia.
2	Coloque el tubo marcado **T Water** en una botella de 1000 ml con agua ultra pura.

5.7.2 Preparar el sándwich de transferencia

Materiales necesarios

Se necesitan los siguientes consumibles y accesorios cuando se prepara un sándwich de transferencia:

- 1 bandeja de transferencia
- 1 tarjeta de gel procesada
- 1 Tarjeta PVDF
- 2 esponjas
- 2 papeles de transferencia
- 1 recipiente con solución amortiguadora de transferencia para mojar los papeles de transferencia
- 1 recipiente con al menos 96% de etanol para mojado previo de la tarjeta PVDF
- 1 recipiente con solución amortiguadora de transferencia para equilibrado de la tarjeta PVDF

Nota: *Algunos etanoles tiene propiedades autofluorescentes que darán como resultado un fondo de membrana muy brillante. Asegúrese de que el etanol que se usa durante la transferencia no sea autofluorescente.*

Precauciones

ADVERTENCIA

Utilice siempre guantes, ropa de protección y gafas adecuadas cuando manipule tarjetas de gel, tarjetas PVDF y otros consumibles que se suministran con Amersham WB system.

Ilustración general del conjunto de sándwich de transferencia

La ilustración siguiente muestra una descripción general del conjunto de sándwich de transferencia.

La tabla siguiente describe brevemente el proceso de preparación de un sándwich de transferencia:

Fase	Descripción
1	La tarjeta PVDF se humedece previamente en etanol y después se equilibra en la solución amortiguadora de transferencia.
2	Se coloca una esponja en la parte inferior de la bandeja de transferencia (tapa negra).
3	Se moja un papel de transferencia en solución amortiguadora de transferencia y después se coloca en la bandeja de transferencia.
4	El molde de gel, incluido el gel con proteínas separadas, son extraídos del soporte del molde de gel y colocados en la bandeja de transferencia.
5	La tarjeta PVDF se coloca en la bandeja de transferencia.
6	El segundo papel de transferencia se humedece previamente en la solución amortiguadora de transferencia y después se coloca en la bandeja de transferencia.
7	Se eliminan las burbujas de aire usando el rodillo integrado en la bandeja de transferencia.

Fase	Descripción
8	Se coloca una segunda esponja sobre el papel de transferencia.
9	Se cierra la bandeja de transferencia.

Prepare la tarjeta PVDF

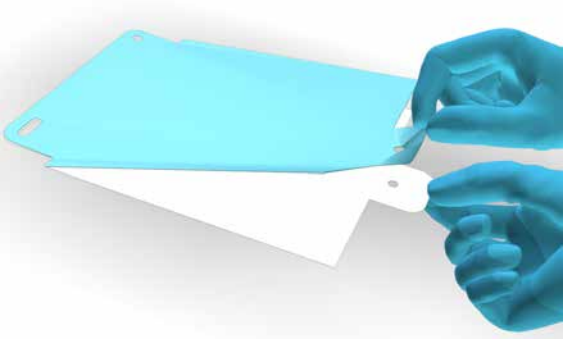
La instrucción siguiente describe cómo prepararse para hacer un sándwich de transferencia:

Paso	Acción
1	Extraiga un paquete único de tarjetas PVDF de la caja de cartón PVDF.

Nota:

Conserve el paquete para IDENTIFICAR la tarjeta PVDFindividual y para almacenaje posterior.

2	Extraiga la tarjeta PVDF del paquete y retire el primer papel de protección azul.

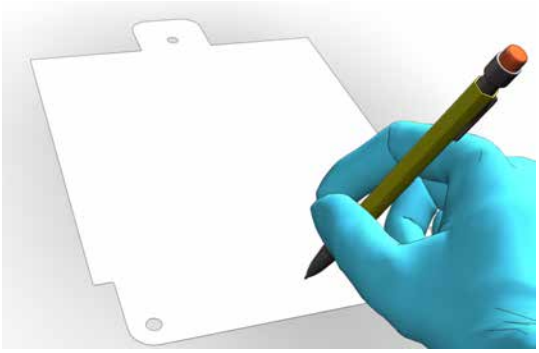


Paso	Acción
3	*Opcional:*

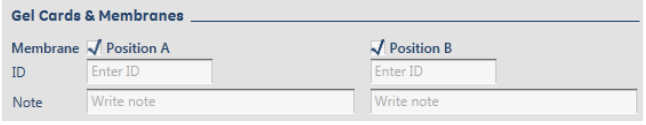
- Antes de retirar el segundo papel de protección azul, escriba una anotación (con un lápiz) en la superficie de escritura de la tarjeta PVDF.

  Consejo:

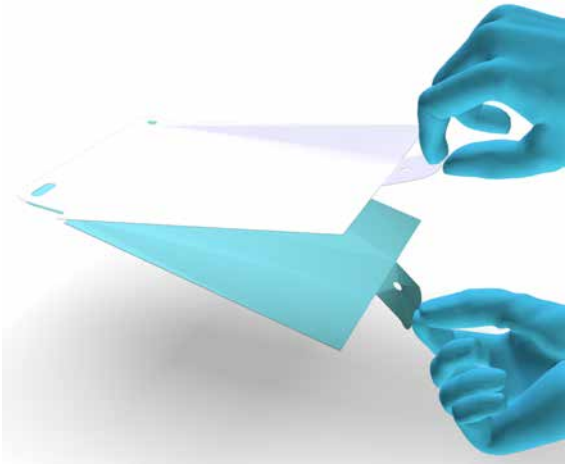
  La superficie de escritura puede utilizarse para introducir la posición (A o B) en la que se usa la tarjeta PVDF.



- Seleccione el paso del flujo de trabajo ***TRANSFER*** del software. Coloque el cursor en el campo ***Note*** apropiado y escriba el texto.

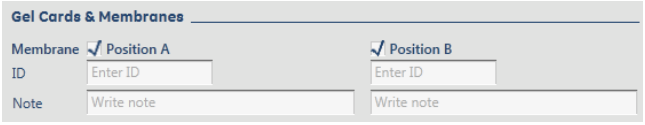


Paso	Acción
4	Retire el segundo papel de protección azul.



Nota:

No toque el área de transferencia (marcada con un cuadro rojo en la imagen) con los dedos. Sostenga la tarjeta PVDF por las asas.

Paso	Acción
5	*Opcional:* Introduzca la información de la tarjeta PVDF en el software. • Seleccione el paso del flujo de trabajo ***TRANSFER*** del software. • En el área ***Gel Cards & Membranes***, coloque el cursor en el campo ***ID*** apropiado. • Escriba manualmente el número de identificación o escanee el indicador de matriz de datos en la etiqueta del paquete único de tarjetas PVDF. • Para introducir una nota acerca de la membrana, coloque el cursor en el campo ***Note*** y escriba la nota. ***Consejo:*** *Escriba el número de lote. Este no se incluye en la matriz de datos pero está disponible en la etiqueta de la caja de tarjetas PVDF.* 
6	Agarre las asas de la tarjeta PVDF y moje la tarjeta en etanol dejándola en la bandeja con etanol durante aproximadamente 20 segundos.
7	Traslade la tarjeta PVDFal PVDF recipiente de solución amortiguadora de transferencia y equilíbrela durante al menos 5 minutos. ***Nota:*** *Asegúrese de que la tarjeta PVDF esté cubierta con solución amortiguadora de transferencia durante este tiempo.*

Comience a preparar el sándwich de transferencia

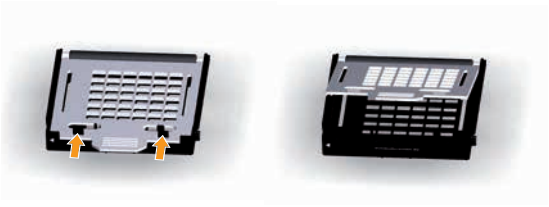
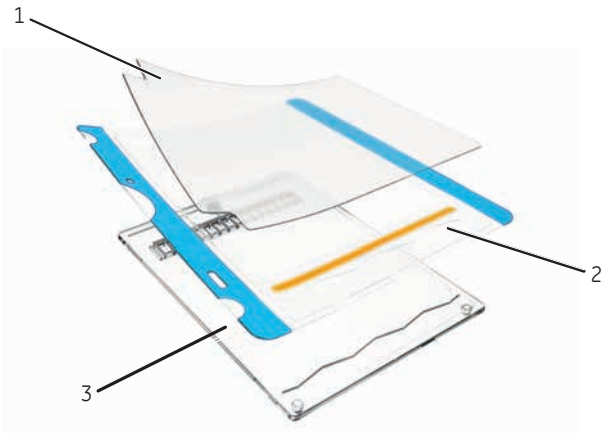
Paso	Ilustración de pasos	Acciones del operador
1		• Coloque la bandeja de transferencia con el lado negro hacia abajo. • Abra la bandeja de transferencia presionando los pestillos y levantando la tapa blanca.
2		• Presione la tapa hasta que los pasadores de rodillo lleguen a las dos cavidades (marcadas con círculos de color naranja en la imagen). • Retire la tapa blanca levantándola a través de las dos cavidades.
3		Coloque la primera esponja sobre la tapa negra.
4		Moje un papel de transferencia en solución amortiguadora de transferencia y colóquelo sobre la esponja de la tapa negra (el asidero del papel de transferencia debe estar posicionado entre los pasadores guía).

Ilustración general del desmontaje de la tarjeta de gel

La ilustración siguiente muestra una vista expandida de las partes de la tarjeta de gel que se desmontan después del ciclo de electroforesis.



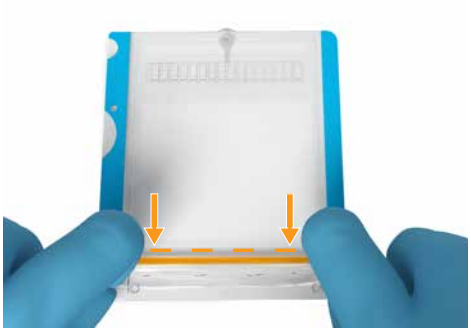
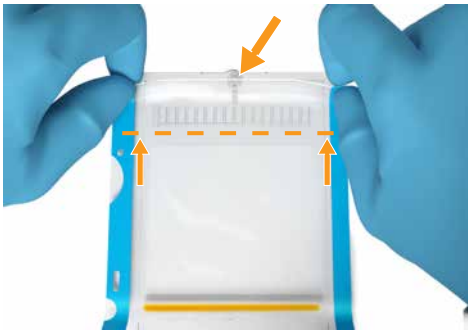
La tabla siguiente describe brevemente las partes de la tarjeta de gel que se van a desmontar.

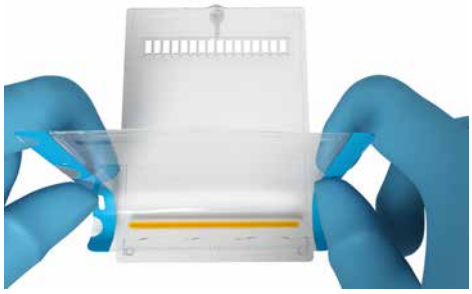
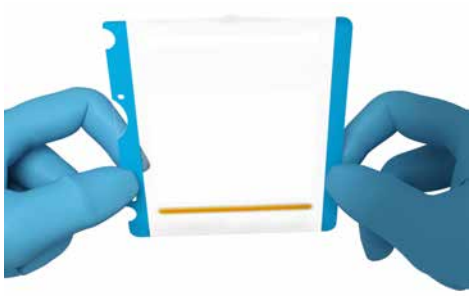
Fase	Descripción
1	Película protectora. En primer lugar se extrae esta película.
2	Molde de gel Se aflojan previamente los bordes del molde de gel de su soporte (3 en la ilustración) y luego se retiran cuidadosamente.
3	El soporte del molde de gel permanece en la mesa.

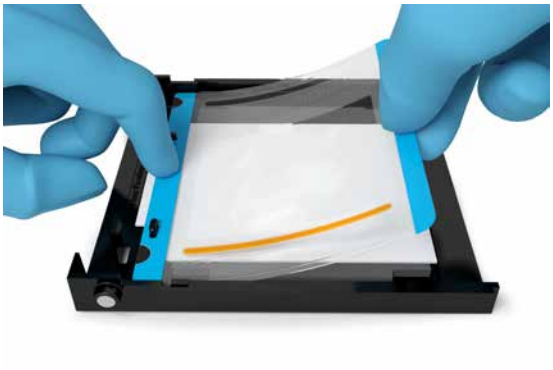
Suelte el molde de gel de su soporte y colóquelo en la bandeja de transferencia

Nota: *No toque la zona de gel (marcada con una cruz roja) cuando afloje el molde de gel.*

Paso	Ilustración de pasos	Acciones del operador
1		Sujete la tarjeta de gel con un firme agarre. Retire la película protectora agarrando el extremo indicado con una flecha naranja y tirando de él **diagonalmente** en la dirección de la flecha.

Paso	Ilustración de pasos	Acciones del operador
2		Coloque la tarjeta de gel sobre la mesa (con el gel expuesto hacia arriba) como se ilustra en la imagen.
3		Sujete las esquinas del molde inferior de gel y afloje el molde de gel entre las esquinas inferiores hasta donde lo indica la línea de puntos y las flechas. ***Nota:*** *Cuando se afloje el gel, siga presionando la tarjeta de gel en dirección del banco con los dedos.*
4		Sujete las esquinas del molde superior de gel y afloje el molde de gel hasta donde lo indica la línea de puntos. Asegúrese de que el molde de gel esté completamente despegado del tapón de goma blanco (indicado por la flecha superior de color naranja).

Paso	Ilustración de pasos	Acciones del operador
5		Continúe aflojando el molde de gel de los bordes de la tarjeta de gel, en dirección hacia el extremo inferior hasta que el molde de gel esté completamente suelto. ***Nota:*** *Cuando se afloje el gel, siga presionando la tarjeta de gel en dirección del banco con los dedos.* ***Nota:*** *Tenga cuidado de no tocar el gel.*
6		Agarre los asideros del molde de gel y levante con cuidado el gel para soltarlo de su soporte.

Paso	Ilustración de pasos	Acciones del operador
7		Coloque el molde de gel sobre el papel de transferencia acoplando los orificios guía del molde de gel a los pasadores guía y haciendo rodar el gel sobre el papel de transferencia.

Coloque la tarjeta PVDF y termine de formar el sándwich de transferencia

Paso	Ilustración de pasos	Acciones del operador
1		Agarre las dos asas de la tarjeta PVDF con los dedos o con la ayuda de la pinza de punta plana. Retire la tarjeta de la bandeja para solución amortiguadora de transferencia. ***Nota:*** *No toque el área de transferencia de la tarjeta PVDF (marcada con un cuadro rojo en la imagen).*
2		Coloque la tarjeta PVDF sobre la tarjeta de gel encajando los orificios guía de la tarjeta PVDF en los pasadores guía y haciendo rodar la tarjeta PVDF sobre el gel. ***Nota:*** *No ajuste la posición de la tarjeta PVDF una vez esté colocada sobre la tarjeta de gel.*
3		Moje un papel de transferencia en solución amortiguadora de transferencia y colóquelo sobre la tarjeta PVDF (el asidero del papel de transferencia debe estar posicionado entre los pasadores guía).

Paso	Ilustración de pasos	Acciones del operador
4		Quite cualquier burbuja de aire de la forma siguiente: • Tome la tapa blanca e insértela en las dos cavidades (imagen de la izquierda). • Agarre el asidero del papel de transferencia con su mano izquierda y arrastre el rodillo en las guías del soporte hacia el otro lado de la bandeja de transferencia con su mano derecha.
5		Coloque la segunda esponja sobre el papel de transferencia.
6		Cierre la bandeja de transferencia presionando la tapa hasta que los pestillos encajen en posición.

5.7.3 Ejecutar transferencia

Introducción

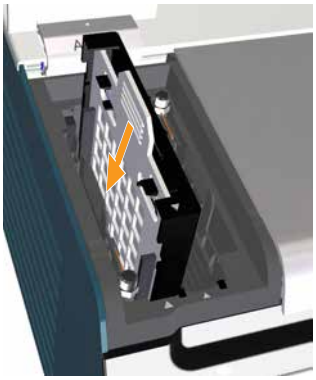
En esta sección se describen:

- cómo cargar la bandeja de transferencia en el depósito de transferencia
- cómo comenzar y monitorizar la transferencia
- los procedimientos a realizar después de la transferencia

Antes de la transferencia

Asegúrese de que se ha conectado la solución amortiguadora de transferencia y el agua ultra pura para el ciclo de transferencia. Para obtener información, consulte *Conecte el tubo a la solución amortiguadora de transferencia y al agua ultra pura del soporte de botellas, en la página 148*

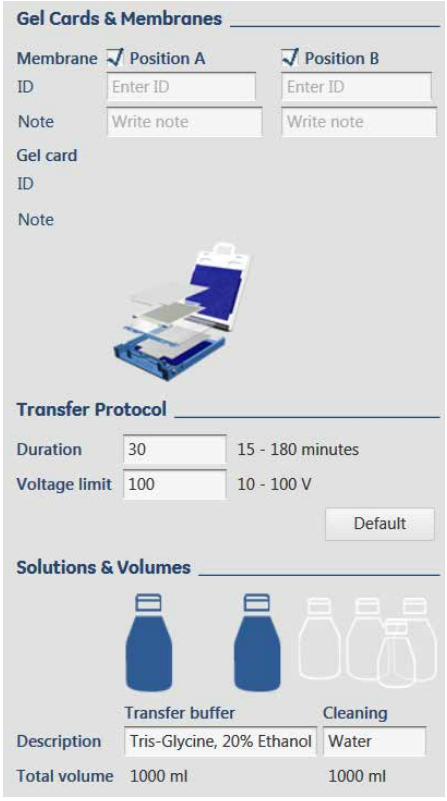
Cargar los sándwich de transferencia

Paso	Ilustración de pasos	Acciones del operador
1		Abra la tapa del depósito de transferencia.
2		Inserte las bandejas de transferencia en el depósito. Asegúrese de que la flecha blanca apunta hacia la flecha del instrumento (hacia usted).
3		Cierre la tapa del depósito de transferencia.

Comenzar y monitorizar la transferencia

PRECAUCIÓN

Peligro de descarga eléctrica. Detenga siempre cualquier ciclo de transferencia en curso antes de limpiar el líquido del instrumento o de la mesa.

Paso	Ilustración de pasos	Acciones del operador
1		En la pantalla principal del software, haga clic en el paso de flujo de trabajo ***TRANSFER***.
2		Utilice la configuración predeterminada para ***Transfer Protocol***, como se muestra en la instantánea de pantalla.

Paso	Ilustración de pasos	Acciones del operador
3		Haga clic en ***Start***, en el área ***Transfer***. ***Nota:*** *Durante el ciclo de transferencia, se recomienda preparar y conectar las soluciones que se van a usar en la fase de sondeo.* *Para obtener más información, consulte Sección 5.8.1 Preparar y conectar sondas y soluciones de anticuerpos, en la página 172.*

5.7.4 Procedimientos después de la transferencia

Introducción

En esta sección se describen los procedimientos de limpieza que se realizan después de la transferencia

Retirar los recipientes de transferencia

Paso	Acción
1	Abra la tapa del depósito de transferencia.
2	Retire los recipientes de transferencia. Cuélguelos diagonalmente en la parte interna frontal del depósito de transferencia, por encima del líquido.

Nota:

Para evitar que se sequen las membranas, no abra los recipientes de transferencia en este paso.

Limpie el recorrido del flujo de transferencia

Nota: *Antes de ponerse a limpiar, retire el recipiente de transferencia.*

Paso	Acción
1	Cuando se finaliza la transferencia, se abre el cuadro de diálogo ***Transfer Completed – Clean Transfer Flow Path***. ***Nota:*** *Se recomienda limpiar el recorrido del flujo de transferencia después de un ciclo.* *Si decide no limpiar el recorrido del flujo de transferencia, haga clic en* ***Cancel*** *y proceda con el Continúe con el sondeo, en la página 170. Sin embargo, recuerde limpiar el recorrido del flujo de transferencia en una fase posterior del experimento. La limpieza puede realizarse seleccionando* ***Control:Clean Transfer flow path*** *en la barra de menús.* *Si no se ha realizado la limpieza, es necesario vaciar manualmente el recorrido del flujo de transferencia seleccionando* ***Empty Transfer tank*** *en el* ***Control*** *menú.*
2	Desplace la tubería **T Buffer** hasta la botella que contiene 1000 ml de agua ultra pura (conjuntamente con la tubería **T Water**).
3	Haga clic en ***Start clean***, en el cuadro de diálogo ***Transfer Completed – Clean Transfer Flow Path***. Se inicia la limpieza, que durará aproximadamente 9 minutes. ***Nota:*** *Se puede iniciar el sondeo mientras se limpia el recorrido del flujo de transferencia; consulte Continúe con el sondeo, en la página 170.*
4	Deseche la solución en la botella de agua y coloque el tubo en una botella vacía.
5	Con un paño que no deje pelusa, limpie la parte superior del interior del depósito de transferencia.
6	Con unas pinzas, retire cualquier partícula, fibra y pedazo de gel residual que sea visible.

Limpiar la bandeja de transferencia

ADVERTENCIA

Después de la electroforesis, o después de la transferencia (cuando se ha abierto el sándwich de transferencia y se ha colocado la tarjeta PVDF en el compartimento de sondeo), elimine el gel de forma segura. Lea la ficha de datos de seguridad (SDS/MSDS) de la tarjeta de gel para ver las instrucciones de seguridad con respecto al gel y su eliminación.

Nota: *Realice este paso cuando se haya abierto el sándwich de transferencia y se haya colocado la tarjeta PVDF en la cámara de sondeo.*

Paso	Acción
1	Retire el gel del sándwich de transferencia. Deseche el gel conforme a las instrucciones de los procedimientos de SDS/MSDS y procedimientos locales para el manejo de residuos.
2	Retire y elimine las esponjas y los papeles de transferencia.
3	Limpie las diferentes partes de la bandeja de transferencia con agua corriente.
4	Deje secar al aire la bandeja de transferencia.

Continúe con el sondeo

Realice uno de los siguientes pasos:

- Si se han preparado las soluciones de sondeo y de anticuerpos y se han conectado a la unidad Western, proceda siguiendo las instrucciones de *Sección 5.8.2 Realizar el sondeo, en la página 176*

  de lo contrario

- Continúe con las instrucciones en *Sección 5.8.1 Preparar y conectar sondas y soluciones de anticuerpos, en la página 172*.

5.8 Realizar sondeo y secado

Introducción

En esta sección se describe cómo realizar el sondeo y el secado.

En esta sección

Esta sección contiene las siguientes subsecciones:

Sección	Consulte la página
5.8.1 Preparar y conectar sondas y soluciones de anticuerpos	172
5.8.2 Realizar el sondeo	176
5.8.3 Procedimientos después del sondeo	181
5.8.4 Realizar el secado	185

5.8.1 Preparar y conectar sondas y soluciones de anticuerpos

Introducción

En esta sección se describe cómo preparar y conectar las soluciones amortiguadoras y otras soluciones para el ciclo de sondeo.

El sondeo y las soluciones de anticuerpos pueden prepararse durante el ciclo de transferencia y deben conectarse antes de comenzar el ciclo de sondeo.

Sondeo y recetas de soluciones de anticuerpos

Solución	Receta	Cantidad/ciclo
Solución de bloqueo	El sistema es compatible con la mayoría de soluciones de bloqueo, por ejemplo 2% de agente ECL PRIME en PBS-T (0,1% Tween™-20 en 1×PBS), o 5% de albúmina de suero bovino en PBS. Utilice soluciones de bloqueo con baja fluorescencia automática; para ver las recomendaciones, consulte el manual de *Western Blotting – Principles and Methods*.	70 ml
Lavado de la solución amortiguadora	PBS-T (0,1% Tween-20 en 1×PBS)	560 ml
Lavado final de la solución amortiguadora	PBS de pH 7,4	290 ml
Solución de anticuerpos	Anticuerpos en PBS-T (0,1% Tween-20 en 1×PBS). Para averiguar cómo determinar las concentraciones óptimas de anticuerpos, consulte Amersham WB system User Manual.	5 a 12 ml
Agua ultra pura (se utiliza para enjuague entre fases de sondeo y limpieza del recorrido del flujo de sondeo)	Agua ultra pura	760 ml

Conecte los tubos a las soluciones para sondeo que están en el soporte de botellas

PRECAUCIÓN

Para evitar la salpicadura de líquidos peligrosos, utilice filtros de entrada robustos conectados a los tubos de las botellas.

Consulte *Sección 3.8 Otros accesorios, en la página 87* para ver las descripciones de los filtros de entrada y de los soportes de los tubos. Consulte *Acoplar los soportes de los tubos, en la página 106* para obtener información sobre la forma de instalar los accesorios.

Antes de comenzar el sondeo, conecte los tubos de las torres del medio y de la derecha a las soluciones que se van a usar en el ciclo de sondeo, de la forma siguiente:

Paso	Acción
1	Desde la torre de tubo del medio, conecte el tubo marcado con: • **P Water** a una botella de 1000 ml con agua ultra pura • **P Block** a una botella de 100 ml con solución de bloqueo
2	Desde la torre de tubo de la derecha, conecte el tubo marcado con: • **P Wash** en una botella de 1000 ml de solución de lavado (PBS-T) • **P Final Wash** a una botella de 500 ml de solución final de lavado (PBS)
3	Antes de comenzar el sondeo, conecte los tubos de solución de anticuerpos que se encuentran en el compartimento de anticuerpos (para obtener información, véase a continuación).

Conecte los tubos de solución de anticuerpos

Nota: *Las soluciones de anticuerpos deben prepararse y conectarse casi en el momento de inicio del sondeo.*

Paso	Acción
1	Abra el compartimento de anticuerpos de la unidad Western presionando el símbolo de expulsión de la tapa del compartimento de anticuerpos.

Paso	Acción
2	Inserte cada tubo de solución de anticuerpos en la posición apropiada, colocando el tubo y haciéndolo encajar en posición con un chasquido.

La tabla siguiente describe qué anticuerpos deben colocarse en qué posición del tubo en el compartimento de anticuerpos.

Posición	Descripción
A PRIMARY	Posición que se usará para los anticuerpos primarios dirigidos a la membrana en la posición A de la cámara de sondeo.
A SECONDARY	Posición que se usará para los anticuerpos secundarios dirigidos a la membrana en la posición A de la cámara de sondeo.
B PRIMARY	Posición que se usará para los anticuerpos primarios dirigidos a la membrana en la posición B de la cámara de sondeo.
B SECONDARY	Posición que se usará para los anticuerpos secundarios dirigidos a la membrana en la posición B de la cámara de sondeo.

3	Cierre la tapa del compartimiento de anticuerpos.

Nota: *Por cada membrana hay un tubo de anticuerpos para los anticuerpos primarios y uno para los anticuerpos secundarios. Esto significa, por ejemplo, que si se seleccionan dos anticuerpos primarios para el marcaje de la membrana en **Position A**, los anticuerpos se mezclan en el mismo tubo de anticuerpos y se colocan en su posición **A PRIMARY**.*

5.8.2 Realizar el sondeo

Introducción

En esta sección se describe cómo:

- coloque las tarjetas PVDF en las cámaras de sondeo
- comenzar y monitorizar el sondeo

Precauciones

ADVERTENCIA

Después de la electroforesis, o después de la transferencia (cuando se ha abierto el sándwich de transferencia y se ha colocado la tarjeta PVDF en el compartimento de sondeo), elimine el gel de forma segura. Lea la ficha de datos de seguridad (SDS/MSDS) de la tarjeta de gel para ver las instrucciones de seguridad con respecto al gel y su eliminación.

PRECAUCIÓN

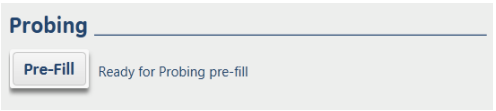
Peligro de pinzamiento. No toque la cámara de sondeo móvil durante un ciclo de operación.

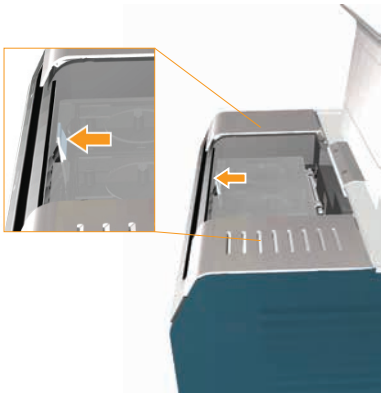
Antes del sondeo

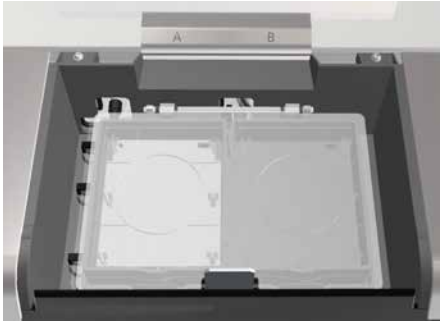
Asegúrese de que las soluciones amortiguadoras, el agua ultra pura, el anticuerpo, las soluciones de bloqueo y las soluciones de lavado están conectados antes de comenzar el sondeo.

Nota: *El agua ultra pura debe estar siempre conectada porque se usa para enjuagar entre los pasos de sondeo. La solución de lavado se utiliza para efectuar el lavado entre anticuerpos primarios en las posiciones **A** y **B**.*

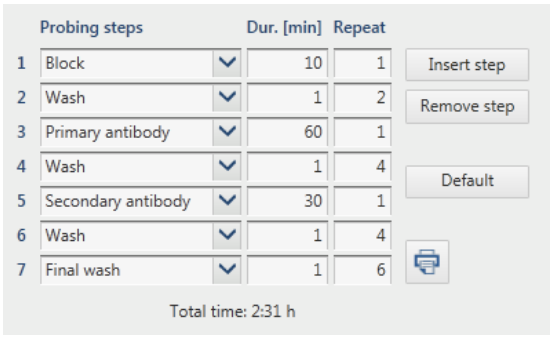
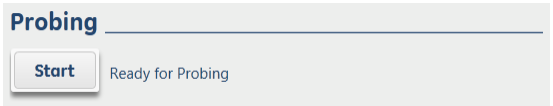
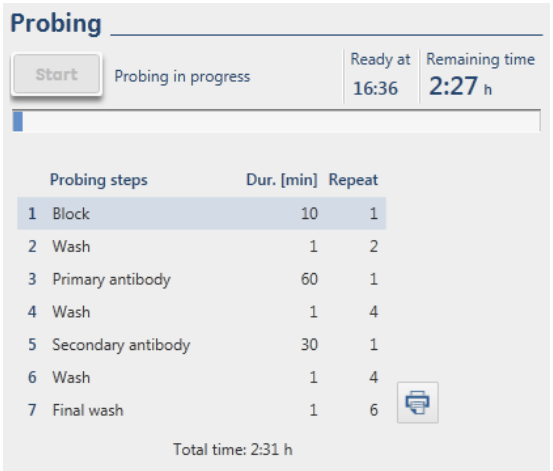
Llenar previamente la cámara de sondeo y cargar las tarjetas PVDF

Paso	Ilustración de pasos	Acciones del operador
1	 	Llene previamente la cámara de sondeo: • En el software, haga clic en el paso del flujo de trabajo ***PROBING & DRYING***. • Haga clic en ***Pre-Fill*** en el área ***Probing*** . *Resultado:* La cámara de sondeo se llena con unos pocos milímetros de la primera solución que aparece en la tabla de secuencia del sondeo (por defecto, la solución de bloqueo). ***Nota:*** *Después de que se ha realizado el prellenado de las cámaras de sondeo:* • *Ya no es posible cambiar el tipo del primer paso que aparece en la tabla de secuencia del sondeo. Sin embargo, se pueden editar los campos* ***Dur. [min]*** *y* ***Repeat****.* • *El botón* ***Pre-Fill*** *cambia y pasa a ser el botón* ***Start*** *y aparece el mensaje de estado* ***Ready for Probing*** *en la pantalla.*

Paso	Ilustración de pasos	Acciones del operador
2		Abra la tapa del compartimento de sondeo y utilice el pestillo para abrir la tapa de la cámara de sondeo.
3		Abra la bandeja de transferencia y retire la esponja y el papel de transferencia que está en la parte superior de la tarjeta PVDF.
4		• Retire la tarjeta PVDF de la bandeja de transferencia. Sujete las asas de la tarjeta PVDF con los dedos o utilice la pinza de punta plana. • Coloque la tarjeta PVDF en la cámara de sondeo, consulte el paso 5. • Para conocer las instrucciones de limpieza de la bandeja de transferencia y de manipulación de los residuos, consulte *Limpiar la bandeja de transferencia, en la página 170*.

Paso	Ilustración de pasos	Acciones del operador
5		Coloque la tarjeta PVDF en la cámara de sondeo prellenada ajustando los orificios de la tarjeta PVDF a los pasadores guía (marcados con círculos de color naranja) y haciendo rodar la tarjeta PVDF en la cámara de sondeo. ***Nota:*** *Tenga cuidado de no tocar el área de transferencia de la tarjeta PVDF.*
6		Cierre la tapa de la cámara de sondeo y la tapa del compartimento de sondeo. Asegúrese de que la tapa de la cámara de sondeo esté bloqueada con el pestillo.

Comenzar y monitorizar el sondeo

Paso	Ilustración de pasos	Acciones del operador
1		En el software, haga clic en el paso de flujo de trabajo ***PROBING & DRYING*** .
2		Utilice la configuración predeterminada para los ***Probing steps***, en el área ***Probing*** , como se muestra en la instantánea de pantalla.
3	 	Haga clic en ***Start***. *Resultado:* comienza el sondeo. El paso de sondeo que está en curso se muestra en el área ***Probing***.

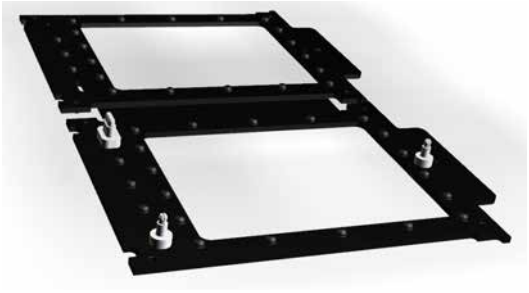
5.8.3 Procedimientos después del sondeo

Introducción

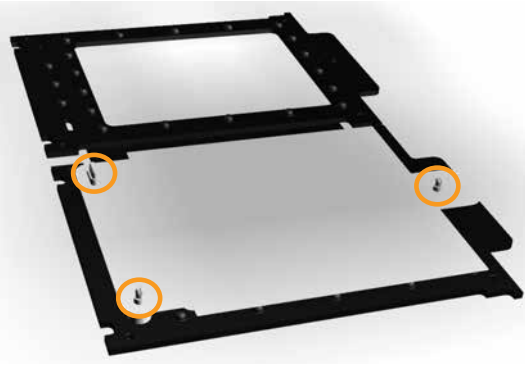
En esta sección se describe cómo:

- coloque la tarjeta PVDF en el soporte de secado
- coloque el soporte de secado en el compartimiento de secado y comience a secar
- limpiar el recorrido del flujo de sondeo

Desplace las tarjetas PVDF al compartimento de secado

Paso	Acción
1	Retire un Amersham WB drying holder (soporte de secado) del compartimiento de secado y ábralo. 
2	Tarjeta Agarre las asas de la tarjeta PVDF con los dedos o use la pinza de punta plana, y extraiga la tarjeta PVDF de la cámara de sondeo.

Paso	Acción
3	Coloque la tarjeta PVDF en el soporte de secado encajando los orificios de la tarjeta PDVF en los tres pasadores guía.



4	Cierre el soporte de secado. Asegúrese de que el soporte de secado esté cerrado con el pestillo.

Paso	Acción
5	Coloque los soportes de secado en la posición correcta del compartimiento de secado (por ejemplo, la tarjeta PVDF en la posición de sondeo **A** a la posición de secado **A**).

Limpiar el recorrido del flujo de sondeo

Nota: *Antes de proceder con la limpieza, desplace las tarjetas PVDF al compartimento de secado (consulte las instrucciones anteriores).*

Paso	Acción
1	Cuando finalice el sondeo, se abre el cuadro de diálogo ***Probing Completed – Clean Probing Flow Path***. ***Nota:*** *Se recomienda limpiar el recorrido del flujo de sondeo después de un ciclo.* *Si decide no limpiar el recorrido del flujo de sondeo, haga clic en* ***Cancel*** *y proceda con el Sección 5.8.4 Realizar el secado, en la página 185. Sin embargo, recuerde limpiar el recorrido del flujo de sondeo en una fase posterior del experimento. La limpieza puede realizarse seleccionando* ***Control:Clean Probing flow path*** *en la barra de menús.* *Si no se ha realizado la limpieza, es necesario vaciar manualmente el recorrido del flujo de sondeo seleccionando* ***Empty Probing chamber*** *en el menú* ***Control*** *.*

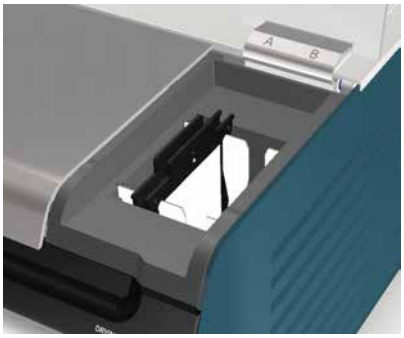
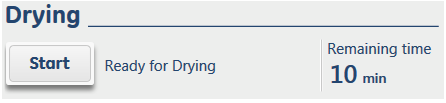
Paso	Acción
2	Inserte tubos nuevos para solución de anticuerpos vacíos en el compartimento de anticuerpos. ***Nota:*** *Debe insertar siempre **cuatro** tubos vacíos nuevos.*
3	Limpie los tubos de sondeo **P Block**, **P Wash** y **P Final Wash** usando un paño mojado y desplace los tubos hasta la botella de agua ultra pura (que contiene los tubos **P Water**). En el cuadro de diálogo, compruebe la cantidad de agua ultra pura que necesita para la limpieza; asegúrese de que la botella contenga al menos esa cantidad de agua.
4	Haga clic en ***Start clean***, en el cuadro de diálogo ***Probing completed – clean probing system***. Se inicia la limpieza, que durará aproximadamente 13 minutes. ***Nota:*** *Se puede comenzar el secado de las membranas mientras se limpia el recorrido del flujo de sondeo.*
5	Una vez finalizada la limpieza, deseche la solución en la botella de agua y deseche el agua residual en los tubos de solución de anticuerpos. Coloque los tubos en una botella vacía.

5.8.4 Realizar el secado

Introducción

En esta sección se describe cómo realizar el secado de las tarjetas PDVF. Al secar la tarjeta PVDF esta tendrá un fondo uniforme y poco brillante, y señales más intensas.

Realizar el secado

Paso	Ilustración de pasos	Acciones del operador
1		Asegúrese de que los soportes de secado con las tarjetas PVDF se han colocado en el compartimiento de secado en las posiciones correctas (por ejemplo, la tarjetaPVDF en la posición de sondeo A hasta la posición de secado A).
2	 	En la fase de flujo de trabajo ***PROBING & DRYING*** del software, haga clic en ***Start*** en el área ***Drying***.

Paso	Ilustración de pasos	Acciones del operador
3		Cuando haya finalizado el secado: • Abra la tapa del compartimento de secado. • Retire los soportes de secado. • La tarjeta PVDF esta lista para el análisis. Proceda con *Sección 5.9 Analizar membrana y ver los resultados, en la página 187*. ***Nota:*** *Si las membranas no están completamente secas, haga clic en* ***Start****, en el área* ***Drying*** *para realizar un nuevo ciclo de secado.*

5.9 Analizar membrana y ver los resultados

Introducción

En esta sección se describe cómo:

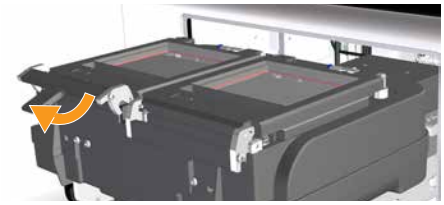
- coloque la tarjeta PVDF en la unidad Elpho & scan
- comenzar y monitorizar el análisis
- ver los resultados del análisis

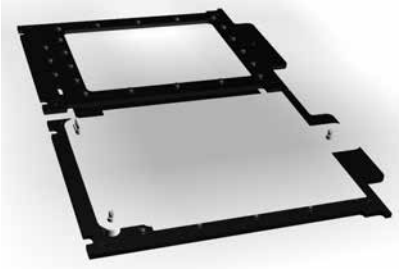
Coloque la tarjeta PVDF en el cargador

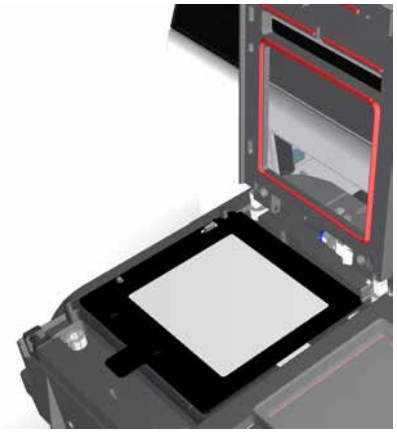
PRECAUCIÓN

Piezas en movimiento. Tenga cuidado al abrir o cerrar el cargador para evitar que los dedos o la ropa queden atrapados cuando se mueve el cargador.

Nunca coloque botellas o frascos en frente de la unidad Elpho & scan. Pueden caerse cuando se abre el cargador.

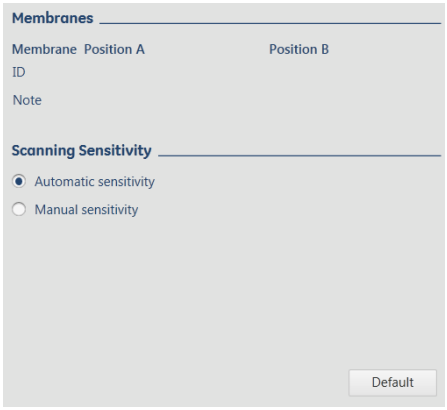
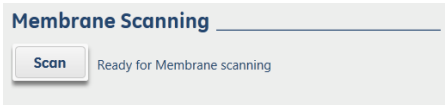
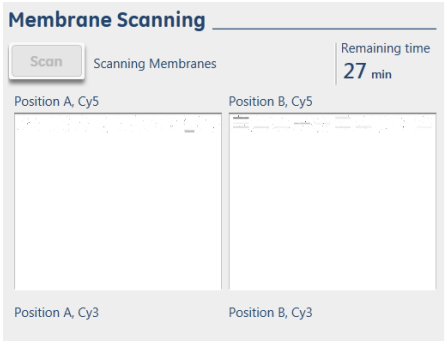
Paso	Ilustración de pasos	Acciones del operador
1		Pulse el botón de expulsión en la unidad Elpho & scan. *Resultado:*se expulsa el cargador.
2		• Gire el pestillo hacia arriba y abra la tapa de sellado. • Con un paño que no deje pelusa, limpie cualquier líquido y suciedad del vidrio protector de la placa de la tarjeta.

Paso	Ilustración de pasos	Acciones del operador
3		• Saque un adaptador de membrana del compartimento de anticuerpos de la unidad Western. ***Nota:*** *Asegúrese de que el adaptador de membrana esté seco y limpio.* • Abra el adaptador de membrana y colóquelo sobre la placa de la tarjeta ajustando los orificios guía del adaptador de membrana a los pasadores guía. ***Nota:*** *Tenga cuidado de no rayar la placa de la tarjeta con ningún objeto afilado.*
4		Abra el soporte de secado.
5		Retire la tarjeta PVDF del soporte de secado y coloque la tarjeta en el adaptador de la membrana encajando los orificios guía en los pasadores guía. ***Nota:*** *Tenga cuidado de no tocar el área de transferencia de la tarjeta PVDF .*

Paso	Ilustración de pasos	Acciones del operador
6		Cierre el adaptador de membrana.
7		Cierre la tapa de sellado.
8		Pulse el botón de expulsión en la unidad Elpho & scan. *Resultado:* se cierra el cargador.

Comenzar y monitorizar el análisis de la membrana

Paso	Ilustración de pasos	Acciones del operador
1		En el software, haga clic en el paso del flujo de trabajo ***MEMBRANE SCANNING*** .

Paso	Ilustración de pasos	Acciones del operador
2		Utilice la configuración predeterminada para el análisis de la membrana, como se muestra en la captura de pantalla.
3		Haga clic en ***Scan***, en el área ***Membrane Scanning***. *Resultado:* comienza el análisis de la membrana.
4		El progreso de los análisis se muestra en el área ***Membrane Scanning***. Cuando haya finalizado el análisis, se mostrarán las imágenes de la membrana en el área ***Membrane Scanning***.

Ver los resultados

Paso	Acción
1	Haga clic en el paso del flujo de trabajo ***EVALUATION*** del software. *Resultado:* se evalúan las imágenes en el área ***Membrane Scanning***. El progreso de la evaluación se muestra en la barra de progreso.

Paso	Acción
2	Cuando se haya realizado la evaluación de las imágenes, estas se mostrarán en la pantalla Evaluación, que mostrará los valores normalizados para el experimento en la pestaña ***Bar chart***. Para obtener más información sobre cómo analizar los resultados, consulte el *User Manual* o la *software help*.

Procedimientos después del análisis de la membrana

Paso	Acción
1	Pulse el botón de expulsión en la unidad Elpho & scan. *Resultado*:se expulsa el cargador.
2	Abra la tapa de sellado.
3	Retire de la placa de la tarjeta el adaptador de membrana con la tarjeta PVDF.
4	Retire la tarjeta PVDF del adaptador de membrana. ***Consejo:*** *La tarjeta PVDF puede almacenarse en condición seca entre dos papeles de filtro en el paquete único original de tarjetas PVDF. Las señales en la tarjeta PVDF seca permanecen estables durante unos 3 meses.*
5	Limpie los adaptadores de membrana con un paño que no deje pelusa y vuelva a colocar los adaptadores en el espacio de almacenamiento del compartimento de anticuerpos.
6	Limpie los soportes de secado con un paño que no desprenda pelusa y vuelva a colocar los soportes en el compartimiento de secado.
7	Con un paño que no deje pelusa, si es necesario impregnado en una solución de 50 % de etanol, limpie la placa de la tarjeta.
8	Con un paño que no deje pelusa, si es necesario impregnado en una solución de 50 % de etanol, limpie el vidrio protector. ***Nota:*** *Es importante mantener el vidrio protector limpio por ambas caras con el fin de obtener un buen resultado al analizar las tarjetas de gel y las tarjetas PVDF.*

Paso	Acción
9	Cierre la tapa de sellado y pulse el botón de expulsión en la unidad Elpho & scan. *Resultado:* se inserta el cargador.

6 Mantenimiento

Acerca de este capítulo

En esta sección se enumeran las actividades de mantenimiento periódico que serán realizadas por el usuario de Amersham WB analyzer, así como actividades de mantenimiento que deben realizarse cuando sea necesario.

Precauciones

ADVERTENCIA

No utilice el equipo Amersham WB analyzer si no funciona correctamente o si ha sufrido algún daño, por ejemplo:

- daños en el cable de alimentación o el enchufe
- daños causados porque el equipo se cayó
- daños en otras piezas que pueden afectar el funcionamiento

ADVERTENCIA

Peligro de descarga eléctrica. Todas las reparaciones se confiarán al personal de servicio autorizado por GE. No abra ninguna cubierta ni cambie piezas a menos que se indique lo contrario en la documentación del usuario.

ADVERTENCIA

Desconecte la alimentación. Recuerde siempre desconectar la corriente eléctrica del instrumento antes de reemplazar cualquier componente, a menos que se indique lo contrario en la documentación del usuario.

ADVERTENCIA

Cuando trabaje con químicos peligrosos, evite los derrames y use gafas de protección y otros equipos de protección personal adecuados. Por ejemplo, el NaOH es corrosivo y, por tanto, peligroso para la salud.

ADVERTENCIA

Solo se pueden utilizar piezas de repuesto aprobadas o suministradas por GE para realizar el mantenimiento o la reparación del sistema..

ADVERTENCIA

Cuando reemplace un cable de alimentación dañado, utilice un cable de repuesto del mismo tipo y de las mismas dimensiones y en conformidad con todos los requisitos vigentes del código local sobre electricidad, así como aprobado por GE.

ADVERTENCIA

Antes de cambiar los fusibles de la red eléctrica, desconecte siempre la corriente principal Para tener protección continua contra el riesgo de incendio, sustituya los fusibles solamente por fusibles del mismo tipo y clasificación eléctrica, como se indica en las etiquetas del instrumento.

PRECAUCIÓN

Cuando trabaje con químicos peligrosos, tome todas las medidas de protección adecuadas, como usar gafas y guantes de protección resistentes a los químicos que está utilizando. Para un funcionamiento y mantenimiento seguro del sistema, respete las normas e instrucciones locales.

Contenido de este capítulo

Este capítulo contiene las siguientes secciones:

Sección	Consulte la página
6.1 Programa de mantenimiento	196
6.2 Instrucciones de mantenimiento	201

6.1 Programa de mantenimiento

Introducción

En esta sección se enumeran las actividades de mantenimiento que debe realizar el usuario del Amersham WB analyzer. El mantenimiento se divide en:

- Después de cada ciclo de proceso
- Mantenimiento semanal
- Mantenimiento mensual
- Mantenimiento anual
- Mantenimiento según sea necesario

Programa de mantenimiento periódico

El usuario del Amersham WB analyzer deberá realizar el mantenimiento periódico que se delinea a continuación.

Intervalo	Medida de mantenimiento	Instrucciones
Después de cada ciclo de proceso de la unidad Elpho & scan		
	• Limpie cualquier líquido que haya en la placa de la tarjeta • Limpie cualquier líquido o suciedad que se encuentre en el vidrio protector de la tapa de sellado • Inspeccione el vidrio de la tapa de sellado por si tuviera ralladuras o marcas y compruebe que el cristal esté firmemente fijado al armazón • Inspeccione el pestillo de la tapa de sellado al cerrar el armazón y elimine cualquier suciedad	Utilice un paño que no deje pelusa o un papel que no raye el vidrio protector o la placa de la tarjeta. Utilice un paño que no deje pelusa mojado en una solución de 50 % de etanol para eliminar las manchas. Póngase en contacto con el departamento de servicio si necesita sustituir una pieza de la tapa de sellado.
	Limpie los soportes de las tiras de solución amortiguadora	Limpie los soportes de las tiras de solución amortiguadora con agua corriente para eliminar las sales y la solución amortiguadora. Deje los soportes de tiras de solución amortiguadora boca abajo para que se sequen al aire.
	Limpiar los adaptadores de la membrana	Limpie los adaptadores de la membrana usando un paño que no deje pelusa y colóquelos en el espacio de conservación del compartimento de anticuerpos.

Intervalo	Medida de mantenimiento	Instrucciones
Después de cada ciclo de proceso de la unidad Western		
	Limpiar el recorrido del flujo de transferencia	Si tras completar la transferencia, no se limpió el recorrido del flujo de transferencia, ejecute el procedimiento de limpieza haciendo clic en ***Control*:*Clean Transfer flow path*** en la barra de menús.
	Limpiar recorrido del flujo de sondeo	Si tras completar el sondeo, no se limpió el recorrido del flujo de sondeo, ejecute el procedimiento de limpieza haciendo clic en ***Control*:*Clean Probing flow path*** en la barra de menús.
	Limpiar la bandeja de transferencia	Consulte *Limpiar la bandeja de transferencia, en la página 170*.
	Limpiar los soportes de secado	Limpie los soportes de secado con un paño que no desprenda pelusa y colóquelos en el compartimiento de secado.
	Retirar cualquier partícula del depósito de transferencia	Inspeccione el depósito y retire cualquier residuo de gel o fibras de papel con unas pinzas. Compruebe el filtro del depósito de transferencia y sustitúyalo si está sucio; consulte *Sustituir el filtro del depósito de transferencia, en la página 215*.
	Limpiar la parte superior del depósito de transferencia	Limpie la parte superior del depósito de transferencia con un paño mojado.

Intervalo	Medida de mantenimiento	Instrucciones
Semanalmente (o cuando no se va a usar el instrumento durante varios días)		
	Limpieza de mantenimiento del recorrido del flujo de transferencia	Consulte *Sección 6.2.1 Limpieza semanal de los recorridos de los flujos de transferencia y de sondeo, en la página 202*.
	Limpieza de mantenimiento del recorrido del flujo de sondeo	Consulte *Sección 6.2.1 Limpieza semanal de los recorridos de los flujos de transferencia y de sondeo, en la página 202*.
	Inspeccione y sustituya si está dañado: • bombas • tubería • el filtro de aire • filtro de entrada	Consulte *Sección 6.2.2 Procedimientos de reemplazo, en la página 206* para obtener más información sobre cómo sustituir los cabezales de las bombas, el filtro de aire y el filtro de entrada. Póngase en contacto con el departamento de servicio si necesita sustituir los tubos.
	Inspeccione y apriete los conectores de los tubos	

Intervalo	Medida de mantenimiento	Instrucciones
Anualmente		
	Sustituya el filtro de aire en el módulo secador Puede ser necesario sustituir el filtro de aire con más frecuencia si el entorno externo es más severo que el de los laboratorios normales en cuanto a la cantidad de polvo en el aire.	Consulte *Sustituir el filtro de aire, en la página 207*.
	Sustituir el cabezal de la bomba de transferencia	Consulte *Sustituir el cabezal de la bomba de sondeo o de transferencia, en la página 210*.
	Sustituir el cabezal de la bomba de sondeo	Consulte *Sustituir el cabezal de la bomba de sondeo o de transferencia, en la página 210*.

Intervalo	Medida de mantenimiento	Instrucciones
Según sea necesario		
	Limpiar el compartimento de secado	Limpie el compartimento de secado de cualquier polvo o partículas utilizando un paño que no deje pelusa mojado con agua ultra pura. Deje que el compartimento se seque antes de usarlo.
	Sustituir los electrodos de transferencia	Consulte *Sustituir los electrodos de transferencia, en la página 213*.
	Sustituir los soportes de tiras de solución amortiguadora	Para obtener información sobre pedidos, consulte Amersham WB system User Manual.
	Sustituir el fusible del suministro eléctrico	Consulte *Sustituir el fusible del suministro eléctrico, en la página 216*.
	Sustituir el cable de alimentación dañado	Consulte *Precautions* al comienzo de este capítulo.
	Sustituir el filtro en el depósito de transferencia	Inspeccione el filtro y, si está sucio o dañado, sustitúyalo. Consulte *Sustituir el filtro del depósito de transferencia, en la página 215*.
	Cambiar los filtros de entrada	Consulte *Cambiar los filtros de entrada, en la página 216*.

6.2 Instrucciones de mantenimiento

Introducción

En esta sección se describe el trabajo de mantenimiento que se debe realizar en el Amersham WB analyzer.

En esta sección

Esta sección contiene las siguientes subsecciones:

Sección	Consulte la página
6.2.1 Limpieza semanal de los recorridos de los flujos de transferencia y de sondeo	202
6.2.2 Procedimientos de reemplazo	206
6.2.3 Traslado de las unidades del instrumento	218

6.2.1 Limpieza semanal de los recorridos de los flujos de transferencia y de sondeo

Introducción

Lleve a cabo una limpieza de mantenimiento semanal del recorrido del flujo de transferencia y del recorrido del flujo de sondeo, o si la unidad no se va a utilizar durante unos días.

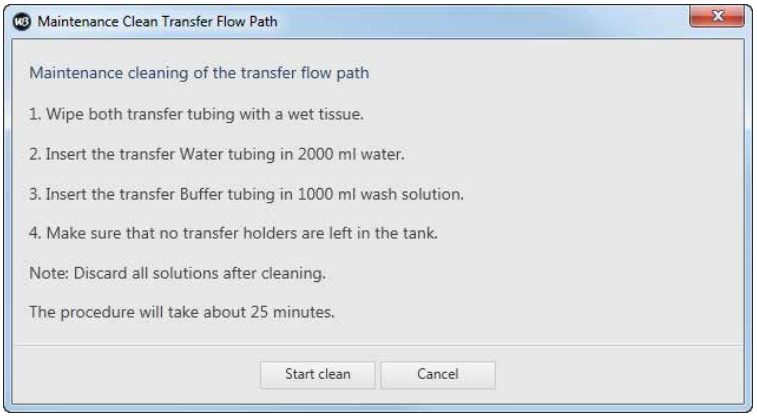
Limpieza de mantenimiento del recorrido del flujo de transferencia

El procedimiento tardará aproximadamente 25 minutos. El sondeo y el secado pueden realizarse al mismo tiempo en paralelo.

Nota: *Asegúrese de que no haya bandejas de transferencia en el depósito.*

ADVERTENCIA

Cuando trabaje con químicos peligrosos, evite los derrames y use gafas de protección y otros equipos de protección personal adecuados. Por ejemplo, el NaOH es corrosivo y, por tanto, peligroso para la salud.

Paso	Acción
1	En el software, seleccione, ***Control:Maintenance clean Transfer flow path*** o haga clic en el botón ***Maintenance clean Transfer*** de la pantalla de inicio del software. *Resultado:* se abre el cuadro de diálogo ***Maintenance Clean Transfer Flow Path***. 
2	• Pase un paño mojado para limpiar la parte superior del depósito de transferencia y de los dos tubos de transferencia. • Compruebe que el filtro del depósito de transferencia esté intacto y limpio. Si fuera necesario, sustituya el filtro.
3	Sumerja el **T Water** tubo en una botella que contenga 2000 ml de agua ultra pura.
4	Sumerja el tubo **T Buffer** en una botella que contenga 1000 ml de 0,5 M NaOH.
5	En el cuadro de diálogo, haga clic en el botón ***Start clean***.
6	Cuando termine la limpieza coloque el tubo en una botella vacía.

Nota: *Elimine todas las soluciones después de la limpieza.*

Limpieza de mantenimiento del recorrido del flujo de sondeo

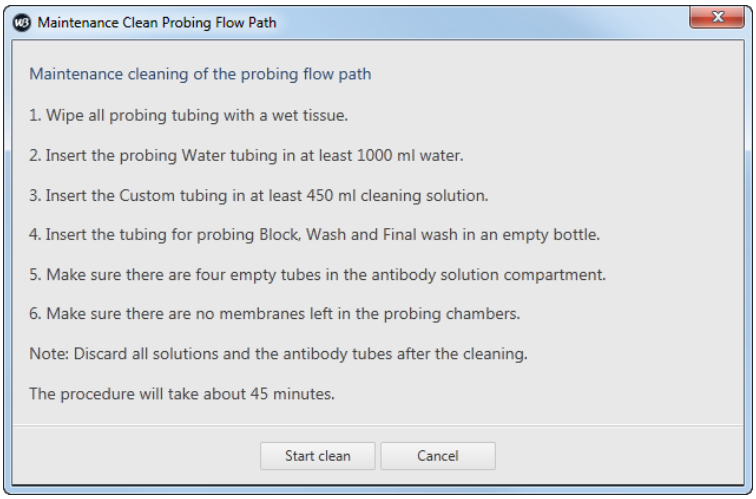
El procedimiento tardará aproximadamente 45 minutos. La transferencia y el secado pueden realizarse al mismo tiempo.

Nota: *Asegúrese de que no haya tarjetas PVDF en las cámaras de sondeo.*

ADVERTENCIA

Cuando trabaje con químicos peligrosos, evite los derrames y use gafas de protección y otros equipos de protección personal adecuados. Por ejemplo, el NaOH es corrosivo y, por tanto, peligroso para la salud.

Paso	Acción
1	En el software, seleccione ***Control:Maintenance clean Probing flow path*** o haga clic en el botón ***Maintenance clean Probing*** de la pantalla de inicio del software. *Resultado:* se abre el cuadro de diálogo ***Maintenance Clean Probing Flow Path***.
2	Con un paño mojado, limpie el tubo de sondeo y la tapa y bordes de la cámara de sondeo.
3	Sumerja el **P Water** tubo en una botella que contenga como mínimo 1000 ml de agua ultra pura.
4	Sumerja el tubo **P Custom** en una botella que contenga al menos 450 ml de 0,5 M NaOH.
5	Coloque los tubos **P Block**, **P Wash** y **P Final Wash** en una botella de residuos vacía.
6	Inserte y conecte **cuatro** tubos de 15 ml vacíos y limpios en el compartimento de anticuerpos.
7	En el cuadro de diálogo, haga clic en ***Start clean***.


Maintenance Clean Probing Flow Path
Maintenance cleaning of the probing flow path
1. Wipe all probing tubing with a wet tissue.
2. Insert the probing Water tubing in at least 1000 ml water.
3. Insert the Custom tubing in at least 450 ml cleaning solution.
4. Insert the tubing for probing Block, Wash and Final wash in an empty bottle.
5. Make sure there are four empty tubes in the antibody solution compartment.
6. Make sure there are no membranes left in the probing chambers.
Note: Discard all solutions and the antibody tubes after the cleaning.
The procedure will take about 45 minutes.
Start clean
Cancel

Paso	Acción
8	Cuando termine la limpieza coloque el tubo en una botella vacía.

Nota: *Después de la limpieza, elimine todas las soluciones y tubos de anticuerpos.*

6.2.2 Procedimientos de reemplazo

Introducción

En esta sección se describe cómo sustituir:

- el filtro de aire
- los cabezales de las bombas de transferencia y de sondeo
- los electrodos de transferencia
- el filtro del depósito de transferencia
- Filtros de entrada
- el fusible de la red eléctrica

Accesorios de mantenimiento

Son necesarios los siguientes accesorios para tareas de mantenimiento del Amersham WB analyzer:

- cabezal de bomba (para la bomba de transferencia y la bomba de sondeo)
- el filtro de aire
- el filtro del depósito de transferencia
- los electrodos de transferencia
- conjunto de filtros de entrada
- fusible (para usarlo correctamente, consulte *Sección 7.1 Especificaciones del sistema, en la página 221*)

Precauciones

ADVERTENCIA

Desconecte la alimentación. Recuerde siempre desconectar la corriente eléctrica del instrumento antes de reemplazar cualquier componente, a menos que se indique lo contrario en la documentación del usuario.

ADVERTENCIA

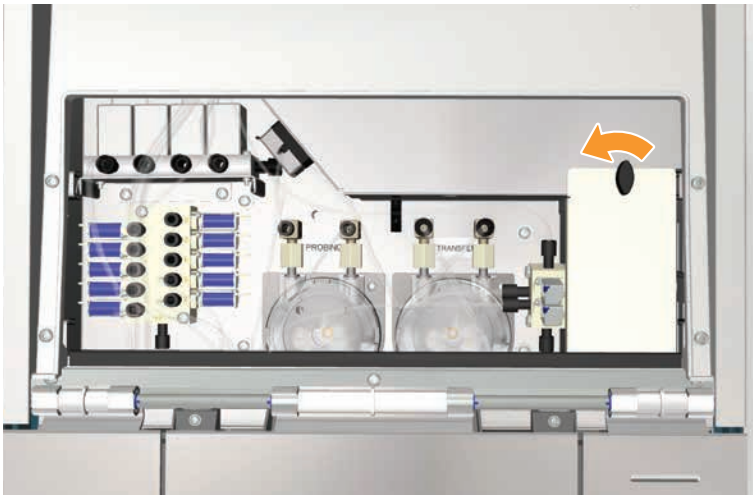
Retire cualquier botella del soporte de botellas antes de abrir la tapa del compartimento de mantenimiento.

Sustituir el filtro de aire

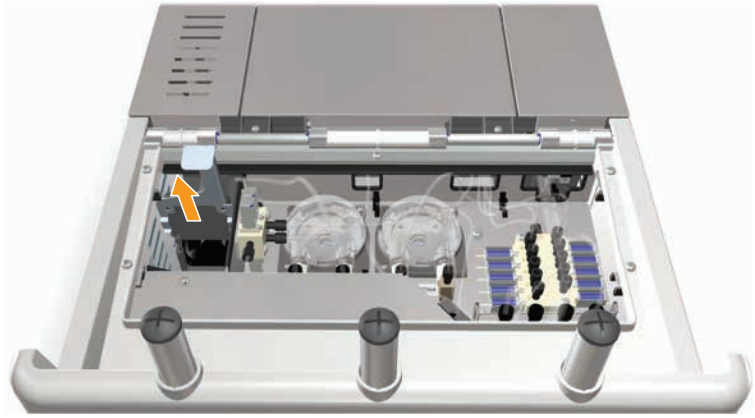
En las instrucciones siguientes se describe cómo sustituir el filtro de aire.

Paso	Acción
1	Abra la tapa del compartimento de servicio.

Paso	Acción
2	Abra la tapa que está por encima del compartimento, donde está ubicado el filtro, girando la tuerca hacia la izquierda y quitándola.

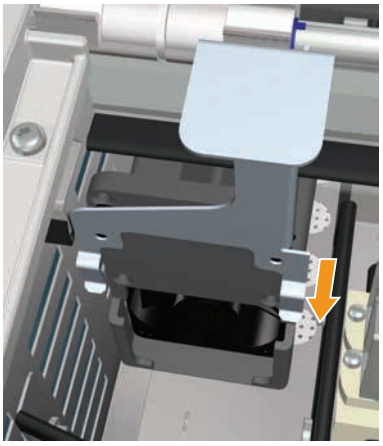


3	Retire el filtro de su soporte tirando del soporte hacia arriba.



4	Retire la parte superior de la rejilla de plástico del soporte, donde está ubicado el filtro.
5	Sustituya el filtro por uno nuevo y fije firmemente la parte superior de la rejilla de plástico.

Paso	Acción
6	Inserte el soporte, ahora con filtro nuevo, en las guías del armazón.



7	Ponga la tapa del compartimento del filtro de nuevo en su lugar y apriete la tuerca girándola hacia la derecha.
8	Cierre la tapa del compartimento de servicio.

Sustituir el cabezal de la bomba de sondeo o de transferencia

En las instrucciones siguientes se describe cómo sustituir un cabezal de bomba, utilizando la bomba de sondeo como ejemplo. Las sustitución del cabezal de transferencia es similar.

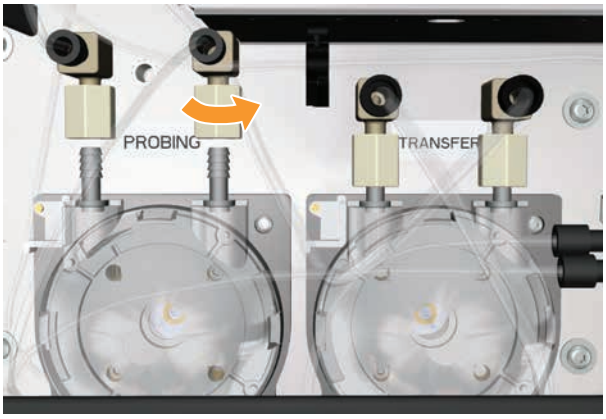
Paso	Acción
1	Abra la tapa del compartimento de servicio para acceder a las bombas de sondeo y de transferencia.

Nota:

La bomba de sondeo está ubicada a la izquierda y la bomba de transferencia a la derecha.

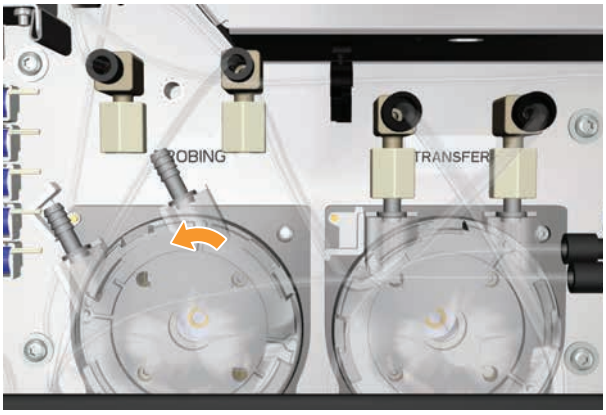
2	Desconecte el tubo de la bomba que se encuentra a la izquierda.

Paso	Acción
3	Desconecte el tubo de la bomba que se encuentra a la derecha.



4	Desbloquee el pestillo que mantiene el cabezal de la bomba en posición.

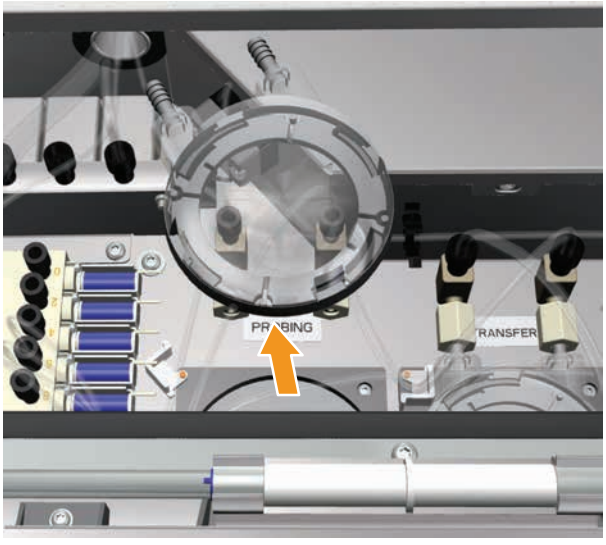
Paso	Acción
5	Gire el cabezal de la bomba hacia la izquierda.



6	Levante el cabezal de la bomba para sacarlo del compartimento de servicio.

Nota:

Al retirar el cabezal tenga cuidado de no dañar o doblar ninguno de los tubos en la unidad Western. Si alguno de los tubos está dañado o doblado tendrá que ser sustituido por tubos nuevos. Póngase en contacto con el departamento de servicio para recibir asistencia.



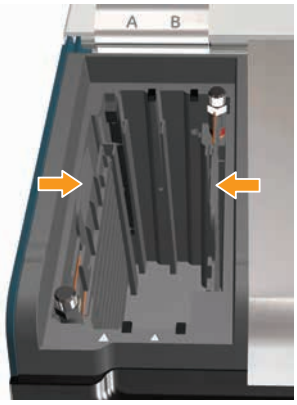
7	Desembale un nuevo cabezal de bomba.

Paso	Acción
8	Coloque el nuevo cabezal de bomba en la posición correcta y gírelo hacia la derecha. ***Nota:*** *Asegúrese de que la rueda correspondiente del cabezal de bomba esté en la posición correcta para encajar en el eje motriz del motor de la bomba.*
9	Bloquee el pestillo para que mantenga el cabezal de la bomba en la posición correcta.
10	Conecte el tubo de la bomba de la derecha al conector derecho del cabezal de bomba.
11	Conecte el tubo de la bomba de la izquierda al conector izquierdo del cabezal de bomba.
12	Cierre la tapa del compartimento de servicio.

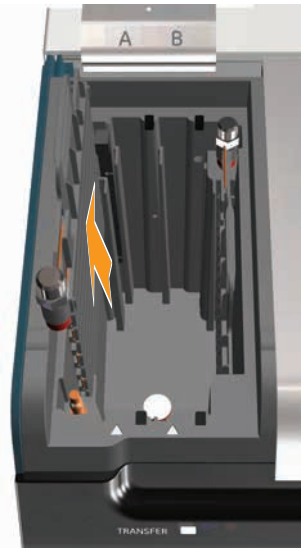
Sustituir los electrodos de transferencia

Si falla el procedimiento de transferencia, se podría deber a electrodos de transferencia defectuosos. Se recomienda sustituir ambos electrodos. En las instrucciones siguientes se describe cómo sustituir los electrodos de transferencia.

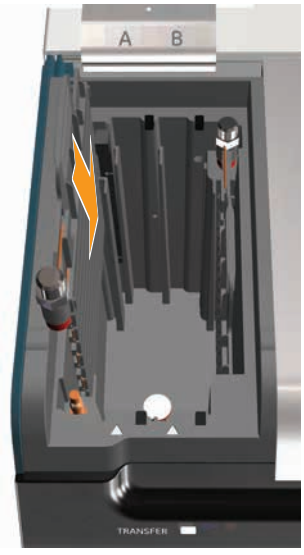
Paso	Acción
1	Abra la tapa del depósito de transferencia. Los electrodos está ubicados en los dos lados.



Paso	Acción
2	Saque el electrodo.



3	Inserte el nuevo electrodo y presiónelo en posición.



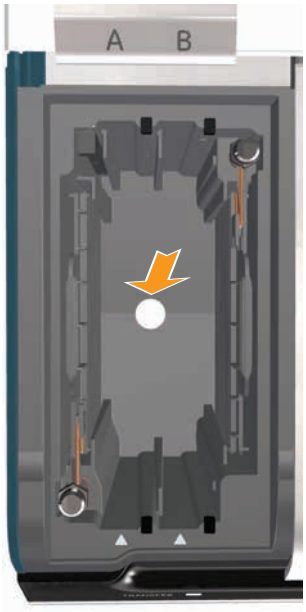
4	Repita el procedimiento de la misma manera que para el electrodo del lado derecho.
5	Cierre la tapa del depósito de transferencia.

Sustituir el filtro del depósito de transferencia

Nota: *Si el filtro de transferencia está sucio, no se debe quitar, limpiar y colocar de nuevo. Debe sustituirse.*

En las instrucciones siguientes se describe cómo sustituir el filtro del depósito de transferencia.

Paso	Acción
1	Abra la tapa del depósito de transferencia. El filtro está ubicado en la parte inferior del depósito de transferencia.



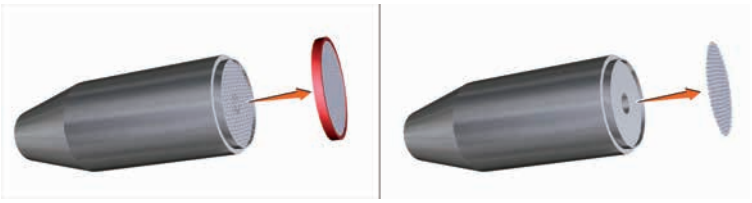
2	Utilizando pinzas, perfore la parte central del filtro. ***Nota:*** *No retire el filtro sujetando sus bordes, ya que podría dañar la junta hermética del filtro.*
3	Utilice el orificio para sujetar y retirar el filtro.
4	Coloque el nuevo filtro y presiónelo con suavidad contra la junta hermética.

Cambiar los filtros de entrada

Sustituya el filtro de entrada cuando sea necesario, por ejemplo cuando esté atascado.

Materiales necesarios: Conjunto de filtro de entrada.

Siga las instrucciones siguientes para sustituir un filtro de entrada y una rejilla de soporte.

Paso	Acción
1	Quite el filtro de entrada y la red de soporte del soporte de filtro de entrada.
	
2	Encaje la nueva rejilla de soporte y el nuevo filtro de entrada en el soporte de filtro, o presione el filtro para que encaje en posición.

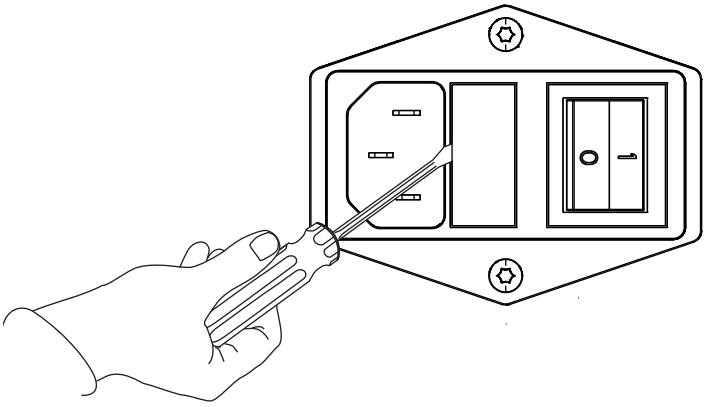
Sustituir el fusible del suministro eléctrico

ADVERTENCIA

Antes de cambiar los fusibles de la red eléctrica, desconecte siempre la corriente principal Para tener protección continua contra el riesgo de incendio, sustituya los fusibles solamente por fusibles del mismo tipo y clasificación eléctrica, como se indica en las etiquetas del instrumento.

Paso	Acción
1	Interrumpa el suministro eléctrico del Amersham WB analyzer colocando los botones de encendido y apagado de los lados posteriores de las unidades Elpho & scan y Western en la posición de desactivación (**0**).
2	Desconecte los cables de alimentación de los enchufes de la red eléctrica en las unidades Elpho & scan y Western.
3	Localice el portafusibles en el panel de conectores de la unidad correspondiente.

Paso	Acción
4	Inserte un destornillador pequeño en la ranura al lado del compartimento de fusibles.



5	Utilice el destornillador para abrir el portafusibles.
6	Sustituya los fusibles. Para ver la información relacionada con los fusibles, vea las etiquetas de la unidad del instrumento en los paneles posteriores.
7	Inserte el compartimento de fusibles en su receptáculo en el panel de conectores.

6.2.3 Traslado de las unidades del instrumento

Precauciones

PRECAUCIÓN

Equipo de Protección Personal (EPP). Durante el llenado, vaciado, transporte o traslado del sistema, debe utilizar siempre:

- Calzado de protección, preferiblemente con recubrimiento de acero.
- Guantes de trabajo para protegerse de los bordes afilados.
- Guantes protectores

PRECAUCIÓN

Objeto pesado. Para levantar las unidades del instrumento de forma segura son necesarias dos personas.

PRECAUCIÓN

Nunca mueva la unidad Western con las botellas colocadas sobre esta.

AVISO

Desconecte los cables. Para prevenir daños al equipo, desconecte siempre los cables antes de desplazar cualquier parte del instrumento.

Instrucciones para levantamiento

Paso	Acción
1	Desconecte todos los cables de las unidades del instrumento y retire cualquier botella que se encuentre en ellas.

Paso	Acción
2	Se necesitan dos personas. Para elevar la unidad, agarre con ambas manos cada lado de la unidad y levántela.

7 Información de referencia

Acerca de este capítulo

En este capítulo se enumeran las especificaciones técnicas del Amersham WB analyzer. El capítulo también incluye una guía de resistencia química y un informe de desinfección que debe utilizarse para registrar los detalles de desinfección antes de una reparación.

Contenido de este capítulo

Este capítulo contiene las siguientes secciones:

Sección	Consulte la página
7.1 Especificaciones del sistema	221
7.2 Guía de resistencia química	226
7.3 Formulario de declaración de salud y seguridad	228
7.4 Traducciones de accesorios y consumibles	231

7.1 Especificaciones del sistema

Introducción

En esta sección se mencionan los datos de especificación del sistema del Amersham WB analyzer.

Rangos ambientales

Parámetro	Datos
Rango de temperatura de almacenamiento y transporte	de -25 °C a +60 °C
Ambiente químico	Consulte *Sección 7.2 Guía de resistencia química, en la página 226*.

Rango de funcionamiento

Parámetro	Límites
Rango de temperatura de funcionamiento	de 15 °C a 32 °C Para un rendimiento completo: de 16°C a 28°C
Humedad relativa	De 20% a 80%, sin condensación Para un rendimiento completo: de 20% a 70%, sin condensación
Altitud	Máximo 2.000 m
Grado de contaminación	2
Nivel de sobretensión	Categoría de sobretensión II
Datos ambientales	Sólo para uso en interiores

Especificaciones del sistema Amersham WB analyzer

Parámetro	Datos
Configuración del sistema	Sistema de laboratorio que consiste en un ordenador externo y dos unidades: Unidad Elpho & scan y unidad Western El ordenador no se incluye con la entrega del producto.
Sistema operativo del ordenador de control	PC con Windows 7
Software de control	Amersham WB software
Conexión entre las unidades Elpho & scan y Western	Cable Ethernet
Conexión entre el ordenador y la unidad Elpho & scan	Cable USB (Tipo A a Tipo B)
Grado de contaminación	2
Nivel de sonido	Por debajo de 80 dB(A)

Especificaciones del sistema de la unidad Elpho & scan

Parámetro	Datos
Dimensiones (ancho x profundidad x altura)	47 x 51 x 27 cm
Peso (sin incluir ordenador)	25 kg
Fuente de alimentación	Voltaje: 100-240 V CA ±10% Frecuencia: 50-60 Hz
Consumo de energía	Potencia máxima: 300 VA
Fuse	2x T4AH 250 V

Especificaciones del escáner

Parámetro	Datos
Sensor de imagen	Fotodiodo de silicio
Tiempo de calentamiento	Al menos 1 minuto ***Nota:*** *El calentamiento se incluye en el modo de sensibilidad automático.*
Lente	F1,0/13 mm
Fuente de luz	Cy5: Módulo de diodo láser, 635 nm, 10 mW
	Cy3: Módulo de diodo láser, 532 nm, 10 mW.
Funcionamiento	Completamente automatizado (exposición automática; no es necesario enfocar ni efectuar ningún otro ajuste ni calibración)
Tamaño máximo de la muestra	2 muestras de aproximadamente 80 x 65 mm^2
Escala de grises	65.536 niveles (16 bit)
Rango dinámico	4,6 órdenes de magnitud
Salida de imagen	Escala de grises de 16 bit (TIF)

Especificaciones de separación

Parámetro	Descripción
Voltage	250-600 V [1]
Corriente	20-50 mA[1]

1 La potencia máxima es de 20 W/tarjeta de gel. Los valores máximos para los parámetros no pueden alcanzarse simultáneamente.

Especificaciones del sistema de la unidad Western

Parámetro	Datos
Dimensiones (ancho x profundidad x altura)	43 x 53 x 39 cm
Peso	20 kg
Fuente de alimentación	Voltaje: 100-240 V~ Frecuencia: 50-60 Hz
Consumo de energía	Potencia máxima: 400 VA
Fuse	2x T4AH 250 V
Tubos de transferencia y conectores	Material de los tubos: FEP, ID 1/8" Casquillo azul Conector de tubos: Tuerca de 5/16"-24UNF 2-A
Tubos y conectores de sondeo	Material de los tubos: FEP, diámetro interno 0,063" Casquillo amarillo Conector de tubos: Tuerca de 1/4"-28UNF 2-B

Especificaciones de transferencia

Parámetro	Descripción
Voltage	10-100 V [1]

1 La potencia máxima es 40 W. La intensidad de corriente máxima es de 400 mA.

Especificaciones de sondeo

Parámetro	Descripción
Volúmenes, sondeo de anticuerpos	5-12 ml

Especificaciones de secado

Parámetro	Descripción
Temperatura	Máximo 45°C
Tiempo de secado	10 minutos

7.2 Guía de resistencia química

Introducción

En esta sección se especifica la resistencia química del Amersham WB analyzer a algunos de los productos químicos más comúnmente usados en la electroforesis y en la transferencia Western.

Supuestos

Las clasificaciones se basan en los siguientes supuestos:

- No se han tenido en cuenta los efectos sinérgicos de las mezclas químicas.
- Se supone la temperatura ambiente y la sobrepresión limitada.

Nota: *Las influencias químicas dependen del tiempo y de la presión. A menos que se establezca lo contrario, todas las concentraciones son al 100%.*

Lista de químicos

Para ver una lista de los productos químicos que se usan en las tarjetas de gel y en las tiras de solución amortiguadora, consulte la Ficha de datos de seguridad (SDS/MSDS).

Uso	Sustancia química	Concentración	Nº CAS y Nº EC
General	Soluciones amortiguadoras acuosas pH 4-10 (por ejemplo, tris, glicina, fosfato)	0-0,2 M	N/A
Transferencia	Etanol	40%	64-17-5/200-578-6
	Metanol	40%	67-56-1/200-659-6
Transferencia y sondeo	Cloruro de sodio	0,2 M	7647-14-5/231-598-3
	Cloruro de potasio	50 mM	7447-40-7/231-211-8
	Tween	1%	9005-64-5/500-018-3
Limpieza del recorrido de flujos	Hidróxido de sodio	0,5 M	1310-73-2/215-185-5
	Hipoclorito de sodio	5%	7681-52-9/231-668-3
Limpieza de la placa de la tarjeta	Etanol	50%	64-17-5/200-578-6

Uso	Sustancia química	Concentración	Nº CAS y Nº EC
Limpieza de las superficies	Etanol	96%	64-17-5/200-578-6
	Detergentes suaves	N/A	N/A

7.3 Formulario de declaración de salud y seguridad

Servicio sobre el terreno

Debe utilizarse un informe On Site Service Health & Safety Declaration Form, tal como el que se muestra en el ejemplo siguiente, para registrar los detalles relacionados con la desinfección, antes de que se realizan tareas de reparación en el centro correspondiente.

On Site Service Health & Safety Declaration Form

Service Ticket #:	

To make the mutual protection and safety of GE service personnel and our customers, all equipment and work areas must be clean and free of any hazardous contaminants before a Service Engineer starts a repair. To avoid delays in the servicing of your equipment, please complete this checklist and present it to the Service Engineer upon arrival. Equipment and/or work areas not sufficiently cleaned, accessible and safe for an engineer may lead to delays in servicing the equipment and could be subject to additional charges.

Yes	No	Please review the actions below and answer "Yes" or "No". Provide explanation for any "No" answers in box below.
		Instrument has been cleaned of hazardous substances. Please rinse tubing or piping, wipe down scanner surfaces, or otherwise ensure removal of any dangerous residue. Ensure the area around the instrument is clean. If radioactivity has been used, please perform a wipe test or other suitable survey.
		Adequate space and clearance is provided to allow safe access for instrument service, repair or installation. In some cases this may require customer to move equipment from normal operating location prior to GE arrival.
		Consumables, such as columns or gels, have been removed or isolated from the instrument and from any area that may impede access to the instrument.
		All buffer / waste vessels are labeled. Excess containers have been removed from the area to provide access.
Provide explanation for any "No" answers here:		

Equipment type / Product No:		**Serial No:**	

I hereby confirm that the equipment specified above has been cleaned to remove any hazardous substances and that the area has been made safe and accessible.

Name:		**Company or institution:**	
Position or job title:		**Date (YYYY/MM/DD):**	
Signed:			

GE and GE monogram are trademarks of General Electric Company.
GE Healthcare Bio-Sciences Corp, 800 Centennial Avenue, P.O. Box 1327, Piscataway, NJ 08855-1327
© 2010-14 General Electric Company—All rights reserved. First published April 2010.

DOC1149542/28-9800-26 AC 05/2014

Devolución del producto o reparación

Debe utilizarse un informe Health & Safety Declaration Form for Product Return or Servicing, tal como el que se muestra en el ejemplo siguiente, para registrar los detalles relacionados con la desinfección, antes de devolver el producto o tener que repararlo.

Health & Safety Declaration Form for Product Return or Servicing

Return authorization number:		*and/or* **Service Ticket/Request:**	

To make sure the mutual protection and safety of GE personnel, our customers, transportation personnel and our environment, all equipment must be clean and free of any hazardous contaminants before shipping to GE. To avoid delays in the processing of your equipment, please complete this checklist and include it with your return.

1. Please note that items will NOT be accepted for servicing or return without this form
2. Equipment which is not sufficiently cleaned prior to return to GE may lead to delays in servicing the equipment and could be subject to additional charges
3. Visible contamination will be assumed hazardous and additional cleaning and decontamination charges will be applied

Yes	No	Please specify if the equipment has been in contact with any of the following:	
		Radioactivity (please specify)	
		Infectious or hazardous biological substances (please specify)	
		Other Hazardous Chemicals (please specify)	

Equipment must be decontaminated prior to service / return. Please provide a telephone number where GE can contact you for additional information concerning the system / equipment.

Telephone No:		
Liquid and/or gas in equipment is:	☐	**Water**
	☐	**Ethanol**
	☐	**None, empty**
	☐	**Argon, Helium, Nitrogen**
	☐	**Liquid Nitrogen**
	Other, please specify	

Equipment type / Product No:		**Serial No:**	

I hereby confirm that the equipment specified above has been cleaned to remove any hazardous substances and that the area has been made safe and accessible.

Name:		**Company or institution:**	
Position or job title:		**Date (YYYY/MM/DD)**	
Signed:			

To receive a return authorization number or service number, please call local technical support or customer service.

GE and GE monogram are trademarks of General Electric Company.
GE Healthcare Bio-Sciences Corp, 800 Centennial Avenue, P.O. Box 1327, Piscataway, NJ 08855-1327, US
© 2010-14 General Electric Company—All rights reserved. First published April 2010.

DOC1149544/28-9880-27 AC 05/2014

7.4 Traducciones de accesorios y consumibles

Nombre del producto en inglés	Traducción
Amersham WB labeling buffer	marcaje de la solución amortiguadora
Amersham WB loading buffer	carga de la solución amortiguadora
Amersham WB molecular weight markers	marcadores de peso molecular
Amersham WB gel card 14, 8-18%	tarjeta de gel
Amersham WB gel card 14, 13.5%	tarjeta de gel
Amersham WB buffer strip	tira de solución amortiguadora
Amersham WB PVDF card	Tarjeta PVDF
Amersham WB transfer paper	papel de transferencia
Amersham WB goat anti-rabbit Cy3/Cy5	cabra anti-conejo Cy3/Cy5
Amersham WB goat anti-mouse Cy3/Cy5	cabra anti-ratón Cy3/Cy5
Amersham WB paper comb	peine de papel
Amersham WB buffer strip holder	soporte de tiras de solución amortiguadora
Amersham WB transfer holder	recipiente de transferencia
Amersham WB sponge	esponja
Amersham WB membrane adapter	adaptador de membrana
Amersham WB drying holder	soporte de secado

Índice

A

Adaptador de la membrana
  Limpiar, 197
Adaptador de membrana
  Colocar en la placa de la tarjeta, 188
  Descripción, 86
  Limpiar, 191
Análisis
  Preparaciones antes de, 187
  Procedimientos posteriores, 191
Análisis de la tarjeta
  PVDF, 187
Anticuerpo (secundario)
  Conservación de anticuerpos liofilizados, 64
  Conservación de anticuerpos reconstituidos, 64
  Descripción, 83
  Tintes de cianina conjugados, 83
Avisos
  de seguridad, 9

B

Bandeja de transferencia
  Descripción, 78
  Limpiar, 170

C

Cabezal de bomba
  Sustituir cabezal de bomba de sondeo o de transferencia, 210
Cargar muestras, 141
CE:
  conformidad, 10
Compartimento de anticuerpos
  Conectar soluciones de anticuerpos, 174
  Descripción, 53
Compartimento de secado
  Descripción, 52
  Limpiar, 200
Compartimento de servicio
  Descripción, 54
  Sustituir cabezales de bombas, 210
  Sustituir el filtro de aire, 207
Compartimento de sondeo
  Descripción, 51
Composición de la tarjeta de gel, 71
Comprobar la conexión del instrumento, 115
Consumibles
  Conservación, 63
  Pedido, 63
Convenciones tipográficas, 7

D

Depósito de transferencia
  Cargar sándwich de transferencia, 165
  Descripción, 50
  Limpiar, 198
Descripción general del software, 89
Descripción general del flujo de trabajo
  General, 119
  Western con normalización de proteínas totales, 120
Desinfección, 34
Documentación
  Archivos de datos y notas de aplicación, 15
  Documentación del usuario, 14
  Manual de métodos, 15

E

Electrodos de transferencia
  Instalar, 100
  Sustituir electrodos de transferencia, 213
Electroforesis
  Cargar muestras, 141

Colocar las tiras de solución amortiguadora en sus soportes, 136
Colocar soportes de tiras de solución amortiguador Elpho & scan unidad, 137
Comenzar y monitorizar, 142
Preparar, 136
Procedimientos posteriores a , 144
Retirar tarjeta de gel, 144
Eliminación, instrucciones generales, 34
Eliminación de componentes eléctricos, 34
Elpho & scan, 42
Abrir, 136
Esponja
Colocar en la bandeja de transferencia, 156
Descripción, 82
Experimento
Crear, 125
Experimentos de electroforesis, 118
Experimentos Western, 118
Introducir información sobre el anticuerpo, 127
Introducir información sobre la muestra, 126
Experimento de electroforesis
Descripción, 118
Descripción general, 119
Experimento Western
Descripción, 118
Descripción general, 119

F

FCC, conformidad, 12
Filtro de aire
Sustituir el filtro de aire, 207
Filtro de entrada
Instalar los filtros de entrada en los tubos, 106
Soporte del filtro de entrada, 87
Sustituir filtro de entrada, 216
Filtro del depósito de transferencia
Sustituir filtro del depósito de transferencia, 215
Fusible de suministro eléctrico
Sustituir fusible del suministro eléctrico, 216

G

Guías de secador de membrana
Instalar guías de secador de membrana, 108

I

Impreso de declaración relativo a salud y seguridad, 229–230
Indicadores, 38
Indicadores del instrumento, 38
Información de fabricación, 10
Información normativa, 10
Cumplimiento normativo del equipo conectado, 13
Información reglamentaria
Conformidad medioambiental, 12
Normas internacionales, 11
Normativas y normas de aplicación al láser, 12
Información sobre pedidos
Pedido de consumibles, 63
Instalación
Instalación del software, 111
Instalar electrodos de transferencia, 100
Instalar guías de secador de membrana, 108
Instalar lector de indicador de matriz, 110
Montar las torres de tubos, 104
Requisitos de espacio, 95
Requisitos de la sala, 94
Requisitos informáticos, 96
Instrumento
Comprobar la conexión del instrumento, 115
Conectar al ordenador, 103

Conectar cables de alimentación, 104
Conecte las unidades del instrumento, 103
Elpho & scan cargador, 42
Unidad Elpho & scan, 40
Interruptores de seguridad, 36

L

Lector de indicador de matriz
Descripción, 87
Instalar el lector de indicador de matriz, 110
Limpiar
Adaptador de la membrana, 197
Adaptador de membrana, 191
Bandeja de transferencia, 170
Compartimento de secado, 200
Depósito de transferencia, 198
Recorrido del flujo de sondeo, 183, 198
Recorrido del flujo de transferencia, 169, 198
Soporte de secado, 191, 198
Soporte de tiras de solución amortiguadora, 145, 197
unidad Elpho & scan, 145

M

Mantenimiento
Accesorios, 206
Limpieza de mantenimiento del recorrido del flujo de sondeo, 203
Limpieza de mantenimiento del recorrido del flujo de transferencia, 202
Programa de mantenimiento, 193
Sustituir cabezal de bomba de sondeo o de transferencia, 210
Sustituir electrodos de transferencia, 213
Sustituir el filtro de aire, 207
Sustituir filtro de entrada, 216
Sustituir filtro del depósito de transferencia, 215
Sustituir fusible del suministro eléctrico, 216
Marca CE, 11
Marcadores de peso molecular
Ilustración, 69
Proteínas, 69

N

Normas internacionales, 11
Notas y consejos, 9

P

Papel de transferencia
Descripción, 81
Peine de papel
Descripción, 76
Procedimiento, 143
Precauciones de seguridad
introducción, 17
Premarcaje, 128
pH de la muestra, 129
Preparaciones, 130
Protocolo de premarcajeWestern, 131
Soluciones amortiguadoras para lisis compatibles, 129
Soluciones y materiales necesarios, 129
Procedimientos de emergencia
Fallo de alimentación eléctrica, 32
Parada de emergencia, 32
Procedimientos posteriores a la electroforesis, 144
Protocolo de premarcaje Western, 131
PVDF
Descripción, 80
Mover al compartimiento de secado, 181

R

Recetas
Soluciones de anticuerpos, 172

Soluciones de transferencia, 147
Soluciones para sondeo, 172
Reciclado de sustancias peligrosas, 34
Recipiente de transferencia
Retirar después del ciclo, 168
Recorrido del
flujo de líquido de transferencia, 56
Requisitos de espacio, 95
Requisitos de la sala, 94
Requisitos informáticos, 96
Retire la tarjeta del pocillo de muestras, 140

S

Sándwich de transferencia
Cargar en el depósito de transferencia, 165
Descripción general del conjunto, 150
Materiales, 149
Preparar, 149
Secado
Comenzar y monitorizar, 185
Seguridad para transporte
Retirar, 100
Software
Inicio del, 124
Instalación, 111
Soluciones
Bloqueo, 172
Conectar soluciones de anticuerpos, 174
Conectar soluciones de sondeo, 173
Conectar soluciones de transferencia, 148
de anticuerpos, 172
Sondeo, 172
Transferencia, 147
Soluciones amortiguadoras
Soluciones amortiguadoras para lisis, 129
Soluciones amortiguadoras y otras soluciones
Agua ultra pura, limpieza, 147, 172
Lavado de la solución amortiguadora, sondeo, 172
Lavado final de la solución amortiguadora, sondeo, 172
Solución amortiguadora de transferencia, 147
Solución de anticuerpos, sondeo, 172
Solución de bloqueo, 172
Sondeo
Comenzar y monitorizar, 180
Conectar soluciones de anticuerpos, 174
Conectar soluciones de sondeo, 173
Limpiar recorrido del flujo, 183, 198
Limpieza de mantenimiento del recorrido del flujo, 203
Llenar previamente la cámara de sondeo, 177
Prepare el sondeo y las soluciones de anticuerpos, 172
Principio básico del proceso de sondeo, 59
Recorrido del flujo de líquido, 58
Sustituir cabezal de bomba de sondeo, 210
Soporte del filtro de entrada
Descripción, 87
Soporte de secado, 85
Limpiar, 191, 198
Soporte de tiras de solución amortiguadora
Colocar en la unidad Elpho & scan, 137
Descripción, 74
Limpiar, 145, 197
Soporte de tubo
Acoplar, 106
Descripción, 88

T

Tarjeta de gel
Colocar sobre la placa de la tarjeta, 139

Descripción general del desmontaje, 157
Resolución de la separación de proteínas, 71
Retire las películas protectoras antes de la electroforesis, 138
Seleccionar tipo, 125
Suelte el molde de gel de su soporte, 158
Tarjeta PVDF
Colocar en la cámara de sondeo, 179
Colocar en unidad Elpho & scan, 187
Comenzar y monitorizar el análisis, 189
Preparar, 152
Tinte de cianina (CyDye)
Longitud de onda de emisión, 83
Longitud de onda de excitación, 83
Tipos de
tarjetas de gel, 71
Tira de solución amortiguadora
Colocar en soporte de tiras de solución amortiguadora, 136
Descripción, 74
Torres de tubos
Montar, 104
Transferencia
Comenzar y monitorizar, 166
Conectar soluciones, 148
Limpiar el recorrido del flujo de transferencia, 198
Limpieza de mantenimiento del recorrido del flujo, 202
Preparar y conectar las soluciones, 147
Principio básico del proceso de transferencia, 57
Sustituir cabezal de bomba de transferencia, 210
Sustituir electrodos de transferencia, 213
Sustituir filtro del depósito de transferencia, 215

U

Unidad
Western del instrumento, 45
Unidad Elpho & scan, 40
Cerrar, 141
Inicio, 122
Limpiar, 145
Unidad Western
Compartimento de anticuerpos, 53
Compartimento de secado, 52
Compartimento de servicio, 54
Compartimento de sondeo, 51
Depósito de transferencia, 50
Inicio, 123

V

Ver resultados, 190

W

Western, 45

Página dejada intencionalmente en blanco

Para obtener la información de contacto de la oficina local, visite
www.gelifesciences.com/contact

GE Healthcare UK Limited
Amersham Place
Little Chalfont
Buckinghamshire, HP7 9NA
Reino Unido

www.gelifesciences.com

GE y el monograma GE son marcas comerciales de General Electric Company.

Amersham, Cy, CyDye, MiniTrap y Sephadex son marcas comerciales de empresas de GE Healthcare o de una de sus filiales.

Microsoft y Windows son marcas registradas de Microsoft Corporation.

Tween es una marca comercial de Uniqema Americas LLC.

CyDye: Este producto está fabricado bajo una licencia exclusiva de Carnegie Mellon University y está respaldado por los números de patentes estadounidenses 5,569,587 y 5,627,027.

La compra de productos CyDye incluye una licencia limitada para usar los productos CyDye en investigación y desarrollo internos pero no con fines comerciales. Existe una licencia para usar los productos CyDye con fines comerciales que está sujeta a un acuerdo de licencia por separado con GE Healthcare.

El resto de las marcas comerciales son propiedad de sus respectivos dueños.

© 2014-2015 General Electric Company – Todos los derechos reservados.
Primera edición: marzo 2014

Todos los productos y servicios se venden de conformidad con los términos y las condiciones de venta de la compañía de GE Healthcare que los provee. Se dispone de una copia de estos términos y condiciones previa solicitud. Comuníquese con el representante local de GE Healthcare para obtener la información más reciente.

GE Healthcare Bio-Sciences AB
Björkgatan 30, 751 84 Uppsala, Sweden

GE Healthcare Europe GmbH
Munzinger Strasse 5, D-79111 Freiburg, Germany

GE Healthcare Bio-Sciences Corp.
800 Centennial Avenue, P.O. Box 1327, Piscataway, NJ 08855-1327, USA

GE Healthcare Japan Corporation
Sanken Bldg. 3-25-1, Hyakunincho Shinjuku-ku, Tokyo 169-0073, Japan

29-0214-77 AE 03/2015 a24